

## 明細書

## 薬物の毒性予測方法

## 技術分野

5 本発明は、薬物の毒性予測方法およびそのためのツールに関する。より詳細には、本発明は、マーカー遺伝子の発現変動を指標とした、医薬候補化合物の毒性（例えば、リン脂質症誘発ポテンシャル等）の予測方法、並びに毒性マーカー遺伝子を検出するための試薬・キット等に関する。

10

## 背景技術

近年、コンビナトリアル・ケミストリーやハイ・スループット・スクリーニングの導入により、創薬研究におけるリード化合物最適化までのボトルネックは、薬効スクリーニングから毒性スクリーニングに移りつ  
15 つある。従って、かかるボトルネックの解消に寄与し得る効率の良い毒性評価・毒性予測系の確立が強く望まれるところである。

現在、医薬品候補化合物の毒性評価は、通常、ラット等の実験動物への化合物投与によるインビボ毒性試験により行われているが、このような試験には、(1)毒性の発現に数日ないし数ヶ月を要する、(2)多量の化合物を必要とする等の欠点がある。特に、化合物の合成量に制限のある  
20 開発初期段階において、毒性の有無を迅速に予測し、構造の最適化を効率よく行うには、より少量で多検体を短時間で評価し得るインビトロスクリーニング系の構築が必須である。

薬物起因性リン脂質症（Phospholipidosis；以下、「PLsis」と略記する場合もある）は細胞内にリン脂質が過剰に蓄積する現象と定義され、  
25 抗うつ薬、抗狭心症薬、抗マラリア薬、抗食欲減退薬、抗高脂血症薬な

どの多くの薬剤もしくはその代謝物によって引き起こされる。PLsis では、リン脂質は主としてリソソーム内に蓄積し、電子顕微鏡学的には円形ないしは楕円形のミエリン様構造物 (lamellar body) が観察される。毒性の発現機構は完全には解明されていないが、1) 化合物によるリソ

5 ソーム酵素 (主にリン脂質分解酵素 (ホスホリパーゼ)) の活性阻害、2) 化合物によるリン脂質代謝に関わる輸送経路の阻害、3) 化合物とリン脂質の複合体形成による複合体の分解阻害、4) 化合物によるリン脂質の合成亢進などに起因するものと考えられている。

PLsis を誘発する化合物の多くは、分子内に疎水性領域と陽性荷電した親水性領域とを併せ持つ (cationic amphiphilic drug; CAD) 構造を有する。近年、ゲノム解析の進展に伴いオーファン受容体の創薬ターゲットとしての価値が認識され、受容体に対する作動薬もしくは拮抗薬の開発が進められているが、そのような化合物は、受容体に作用するという性質ゆえに CAD 構造を有している場合が多く、PLsis の発現が医薬品

10 開発の妨げとなるケースが増加している。従って、効率の良い PLsis 誘発性の評価・予測系の開発が急務である。

これに対し、ホスホリパーゼ活性阻害を指標とした評価方法 (Matsuzawa, Y. および Hostetler, K.Y., J. Biol. Chem. (米国)、1980年、第255巻 (第2号)、p p. 646-652) や、肝細胞もしくは培養リンパ球におけるリン脂質の蓄積を蛍光色素を用いて検出する方法 (Gum, R.J. ら、Biochem. Pharmacol. (英国)、2001年、第62巻、p p. 1661-1673 および Xia, Z. ら、Biochem. Pharmacol. (英国)、1997年、第53巻、p p. 1521-1532) 等が提唱されているが、いずれも信頼性および／または迅速性などの面で不十分

20 であり、未だ実用的なインビトロスクリーニング系の確立には至っていない。

ところで、数千～数万種の mRNA の発現を同時にモニタリングするマイクロアレイ技術（網羅的遺伝子発現解析、トランスクリプトミクス（transcriptomics））が医学・生物学の種々の分野で盛んに利用されている。毒性学の分野でも、毒性発現メカニズムの解明や毒性予測の研究に本技術が活用され始めており、トキシコゲノミクス（toxicogenomics）と呼ばれる新たな研究分野として期待されている（Aardema, M. J. および MacGregor, J. T. ら、Mutat. Res.（蘭国）、2002 年、第 499 巻、p p. 13－25）。毒性現象には、1 ないし数個の遺伝子の独立した変化だけでなく、遺伝子間の相互作用やカスケード等のように多数の遺伝子が互いに関連し合った一体的な変動が伴うものと考えられる。そのため、マイクロアレイというトランスクリプトームレベルでの解析が可能な技術を用いることで、毒性発現に関わる分子の挙動を包括的に捉えることが可能になると期待される。例えば、国際公開第 02/10453 号パンフレットおよび国際公開第 02/095000 号パンフレットには、膨大な遺伝子群から選択される 2 ないし 100 以上の遺伝子の、試験化合物存在下における発現量を調べ、その結果を、既知陽性および陰性化合物を用いて個々の遺伝子について予め算出された陽性平均および／または陰性平均発現量と比較することにより、試験化合物の肝または腎毒性を予測する手法が開示されている。

## 発明の開示

本発明の目的は、PLsis の発現と相関して発現が変動する遺伝子、すなわち PLsis マーカー遺伝子を同定し、該遺伝子の発現変動を指標としたハイスループットな PLsis 誘発ポテンシャルの予測手段を提供することである。

また、本発明の別の目的は、ある毒性の発現に伴って発現が共通変動

する一連の遺伝子群を包括的に把握するとともに、これら遺伝子の網羅的発現解析により得られる情報から、薬物の毒性の有無をより正確に予測し得るように評価系を構築するための最適化方策を提供することである。

- 5      本発明者らは、マイクロアレイを用いて、種々の既知 PLsis 誘発化合物に曝露したヒト培養細胞における網羅的遺伝子発現解析を行った結果、これら化合物の多くで顕著に発現が変動した遺伝子を同定した。これらの中から機能が重複せず発現変動率が高い 1 2 遺伝子を抽出し、リアルタイム定量 PCR により精査した結果、これらの遺伝子は、電子顕微鏡
- 10   学的観察によるミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物の出現程度と相関して発現が変動することが確認された。さらに、本発明者らは、PLsis の発現をこれらマーカー遺伝子の包括的な挙動との関連として捉え、発現の平均変動率という概念を導入することにより、偽陽性および偽陰性の確率が極めて低い、非常に信頼性に優れた
- 15   PLsis 誘発ポテンシャルのインビトロ評価系を構築することに成功して本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、

- [1]   配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該塩基
- 20   配列に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有してなる、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャル予測用試薬；

- [2]   リン脂質症の発現と相関して発現が変動する遺伝子の転写産物
- 25   とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該転写産物に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェン

トな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有する 1 もしくは 2 以上の試薬を含んでなる、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャル予測用キットであって、2 以上の試薬を含む場合、各試薬は互いに異なる遺伝子の発現を検出し得るものであるキット；

- 5    [3]    少なくとも 1 つの試薬は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有する、上記 [2] 記載のキット；

10    [4]    哺乳動物細胞を試験化合物に曝露した際の、各試薬中に含有される核酸がハイブリダイズし得る核酸の該細胞内での発現の平均変動率を指標とした場合に、リン脂質症誘発ポテンシャルの予測的中率が約 70 % 以上である、上記 [2] 記載のキット；

- 15    [5]    化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの予測方法であって、化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは化合物を投与された哺乳動物より採取した試料における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出することを含む方法；

- 20    [6]    少なくとも 1 つの遺伝子は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである、上記 [5] 記載の方法；

25    [7]    化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの有無を判定するための基準を決定する方法であって、

- (1) 2 以上の既知リン脂質症誘発化合物および 2 以上の既知リン脂質症非誘発化合物の各々に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは該化

化合物の各々を投与された哺乳動物より採取した試料における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出し、

(2) 該遺伝子の発現の平均変動率とリン脂質症誘発ポテンシャルとの関係から、上記化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの有無を約 70% 以上正しく判定することができる平均変動率の値を基準値とすることを  
5 含む方法；

[8] 少なくとも 1 つの遺伝子は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである、上  
10 記 [7] 記載の方法；

[9] 他の既知リン脂質症誘発化合物および既知リン脂質症非誘発化合物を用いて基準値の妥当性を検証することをさらに含む、上記 [7] 記載の方法；

[10] 遺伝子の発現の平均変動率を、上記 [7] または [9] 記載の方法により得られる基準値と比較することを含む、上記 [5] 記載の方法；

[11] 化合物の毒性の予測方法であって、

(1) 化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは化合物を投与された哺乳動物より採取した試料における、毒性の発現と相関して発現  
20 が変動する 1 以上の遺伝子の発現変動を検出し、

(2) 該遺伝子の発現の平均変動率を指標として該化合物の毒性の有無を判定することを含む方法；  
などを提供する。

## 25 図面の簡単な説明

図 1 は、PLsis 誘発化合物（アミオダロン、アミトリプチリン、AY

ー 9 9 4 4、クロルシクリジン、クロルプロマジンおよびクロミプラミン) の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す。

図 2 は、PLsis 誘発化合物 (フルオキセチン、イミプラミン、ペルヘキシリン、タモキシフェン、チオリダジンおよびジメリジン) の構造式、

5 分子量、薬効および添加濃度を示す。

図 3 は、PLsis 誘発化合物 (クロザピン、ケトコナゾール、ロラタジン、ペンタミジンおよびセルトラリン) の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す。

図 4 は、PLsis 非誘発化合物 (アセトアミノフェン、クラリスロマイシン、ジソピラミド、エリスロマイシン、フレカイニドおよびハロペリ  
10 ドール) の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す。

図 5 は、PLsis 非誘発化合物 (レボフロキサシン、オフロキサシン、プロカイナミド、キニジン、ソタロール、スルファメトキサゾールおよびスマトリプタン) の構造式、分子量、薬効および添加濃度を示す。

15 図 6 は、化合物添加 2 4 時間後の HepG2 細胞における PLsis マーカー遺伝子の発現の平均変動率 (縦軸) と、化合物添加 7 2 時間後の HepG2 細胞におけるミエリン様構造物の出現程度 (横軸) との相関を示す。+++ : 大型のミエリン様構造物が複数認められる ; ++ : 中等度のミエリン様構造物が少数認められる ; + : 軽微なミエリン様構造物が少数認められる ; - : ミエリン様構造物はみとめられない  
20

図 7 は、種々の化合物の添加 2 4 時間後の HepG2 細胞における PLsis マーカー遺伝子の発現の平均変動率の再現性を示す。横軸は 1 回目の実験により得られた平均変動率、縦軸は 2 回目の実験により得られた平均変動率をそれぞれ示す。

本発明は、PLsis の発現と相関して発現が変動する遺伝子（すなわち、PLsis マーカー遺伝子）の発現を検出し得る核酸を含有する PLsis 誘発ポテンシャル予測用試薬を提供する。ここで「PLsis 誘発ポテンシャル」とは、化合物が標的哺乳動物細胞と接触した場合に該細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物を生じさせる能力をいう。従って、インビボ投与で PLsis を誘発する化合物であっても、生体内代謝産物のみが PLsis 誘発性である場合は PLsis 誘発ポテンシャル陰性であり、一方、生体内で速やかに代謝されて無毒化される化合物であってもそれ自体が PLsis 誘発性である場合は PLsis 誘発ポテンシャル陽性である。

「PLsis の発現と相関して発現が変動する」とは、哺乳動物細胞を種々の化合物に曝露したときに、該化合物が該細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物を生じさせるものである場合に発現が実質的に増加または減少し、該化合物が該細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物を生じさせないものである場合には発現が実質的に変動しない、という傾向が統計学上有意に認められることをいう。尚、「実質的に増加または減少」とは、非曝露時の 1.5 倍以上に増加するか、あるいは非曝露時の 2/3 以下に減少することをいい、「実質的に変動しない」とは、非曝露時の 2/3 ~ 1.5 倍の発現レベルであることをいう。

具体的には、PLsis マーカー遺伝子としては、リソソーム酵素をコードする遺伝子、脂質代謝（例：コレステロール合成、脂肪酸伸長反応、不飽和脂肪酸合成等）関連蛋白質をコードする遺伝子、輸送（例：脂肪酸輸送、蛋白質輸送、アミノ酸輸送等）関連蛋白質をコードする遺伝子、細胞増殖関連蛋白質をコードする遺伝子、プロテアーゼもしくはプロテアーゼインヒビターをコードする遺伝子、アミノ酸代謝関連蛋白質をコ



ードする遺伝子などが挙げられる。より具体的には、本発明により抽出された PLsis と相関して発現が増加する遺伝子としては、GenBank データベースに、それぞれ NM\_014960、NM\_000859、AL518627、NM\_002130、AA639705、BC005807、AF116616、NM\_025225、U47674、D80010、NM\_001731、  
5 AW134535、NM\_004354、AF135266、AC007182、NM\_003832、NM\_019058、AB040875、AA488687、NM\_018687、NM\_021158、BG231932、NM\_024307、NM\_000235、AA873600、D63807、AF096304、AW150953、NM\_001360、NM\_021969、AC001305、NM\_024090、NM\_001443、NM\_006214、NM\_024108、NM\_021980、NM\_002151、AF003934、NM\_000596、U15979、M92934、NM\_002087、AK023348、  
10 NM\_002773、NM\_000131、BC003169、NM\_002217、NM\_003122、NM\_001673、NM\_000050、NM\_001085、U08024、NM\_003167、BC005161、AF162690、AW517464、AF116616、NM\_017983、AL136653、NM\_016061、BE966922、BE552428、NM\_022823、NM\_012445、NM\_000792、NM\_015930、NM\_021800、NM\_005980、NM\_000565 および AB033025 の ID を付されて登録されている塩基配列を  
15 含有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等が挙げられる。一方、PLsis と相関して発現が減少する遺伝子としては、GenBank データベースに、それぞれ NM\_006931、AL110298、NM\_006931、NM\_001955、NM\_003897、NM\_003186、AA778684、NM\_001283、NM\_012242、AI934469、NM\_003186 および NM\_002450 の ID を付されて登録されている  
20 塩基配列を有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等が挙げられる。

好ましくは、本発明の PLsis マーカー遺伝子として、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 に示される各塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列をそれぞれ有する  
25 12 種の遺伝子が挙げられる。ここで「実質的に同一の塩基配列」とは、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 お

よび 2 3 に示される各塩基配列の相補鎖配列を有する核酸とそれぞれハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る塩基配列であって、それにコードされる蛋白質が該配列番号に示される塩基配列にコードされる蛋白質と同一もしくは実質的に同一のものであるような配列を意味する。「ハイストリンジェントな条件」とは、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 2 3 に示される各塩基配列の相補鎖配列を有する核酸と、オーバーラップする領域において約 70% 以上、好ましくは約 80% 以上、より好ましくは約 90% 以上、特に好ましくは約 95% 以上の相補性を有する塩基配列を有する核酸とがハイブリダイズし得る条件をいい、例えば、ナトリウム濃度が約 19 ~ 40 mM、好ましくは約 19 ~ 20 mM で、温度が約 50 ~ 70 °C、好ましくは約 60 ~ 65 °C、特に好ましくは、ナトリウム濃度が約 19 mM で温度が約 65 °C の場合が挙げられる。当業者は、ハイブリダイゼーション溶液の塩濃度、ハイブリダイゼーション反応の温度、プローブ濃度、プローブの長さ、ミスマッチの数、ハイブリダイゼーション反応の時間、洗浄液の塩濃度、洗浄の温度等を適宜変更することにより、所望のストリンジェンシーに容易に調節することができる。

「実質的に同一の蛋白質」とは、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 および 24 に示される各アミノ酸配列と約 70% 以上、好ましくは約 80% 以上、より好ましくは約 90% 以上、特に好ましくは約 95% 以上、最も好ましくは約 98% 以上の相同性を有するアミノ酸配列を有し、且つ上記各配列番号 2 に示されるアミノ酸配列を有する蛋白質と同質の活性を有する蛋白質をいう。「同質の活性」とは、活性が性質的に（例えば、生理学的に、または薬理学的に）同一であることをいい、量的には同等（例：0.5 ~ 2 倍）であることが好ましいが、異なっているいてもよい。また、アミノ酸配列の相同性の条

件を満たす限り、分子量などの他の量的要素が異なってもよい。

アミノ酸配列について、「相同性」とは、当該技術分野において公知の数学的アルゴリズムを用いて2つのアミノ酸配列をアラインさせた場合の、最適なアラインメント（好ましくは、該アルゴリズムは最適なアラインメントのために配列の一方もしくは両方へのギャップの導入を考慮し得るものである）における、オーバーラップする全アミノ酸残基に対する同一アミノ酸および類似アミノ酸残基の割合（%）を意味する。「類似アミノ酸」とは物理化学的性質において類似したアミノ酸を意味し、例えば、芳香族アミノ酸（Phe、Trp、Tyr）、脂肪族アミノ酸（Ala、Leu、Ile、Val）、極性アミノ酸（Gln、Asn）、塩基性アミノ酸（Lys、Arg、His）、酸性アミノ酸（Glu、Asp）、水酸基を有するアミノ酸（Ser、Thr）、側鎖の小さいアミノ酸（Gly、Ala、Ser、Thr、Met）などの同じグループに分類されるアミノ酸が挙げられる。このような類似アミノ酸による置換は蛋白質の表現型に変化をもたらさない（即ち、保存的アミノ酸置換である）ことが予測される。保存的アミノ酸置換の具体例は当該技術分野で周知であり、種々の文献に記載されている（例えば、Bowie ら, Science, 247: 1306-1310 (1990)を参照）。

アミノ酸配列の相同性を決定するためのアルゴリズムとしては、例えば、Karlin ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 5873-5877 (1993) に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムは NBLAST および XBLAST プログラム (version 2.0) に組み込まれている (Altschul ら, Nucleic Acids Res., 25: 3389-3402 (1997))], Needleman ら, J. Mol. Biol., 48: 444-453 (1970) に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムは GCG ソフトウェアパッケージ中の GAP プログラムに組み込まれている], Myers および Miller, CABIOS, 4: 11-17 (1988) に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムは CGC 配列アラインメントソフトウェアパッケージの一部である

ALIGN プログラム (version 2.0) に組み込まれている]、Pearson ら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 2444-2448 (1988) に記載のアルゴリズム [該アルゴリズムは GCG ソフトウェアパッケージ中の FASTA プログラムに組み込まれている] 等が挙げられるが、それらに限定されない。

- 5 より好ましくは、配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 および 24 に示されるアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列とは、各配列番号に示されるアミノ酸配列とそれぞれ約 70% 以上、好ましくは約 80% 以上、より好ましくは約 90% 以上の同一性を有するアミノ酸配列である。
- 10 かかる相同性を有する蛋白質としては、例えば、1) 配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 または 24 に示されるアミノ酸配列中の 1 または 2 個以上（好ましくは 1～30 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、特に好ましくは数（1～5）個）のアミノ酸が欠失したアミノ酸配列、2) 配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 または 24 に示されるアミノ酸配列に 1 または 2 個以上（好ましくは 1～30 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、特に好ましくは数（1～5）個）のアミノ酸が付加したアミノ酸配列、3) 配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 または 24 に示されるアミノ酸配列に 1 または 2 個以上（好ましくは 1～30 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、特に好ましくは数（1～5）個）のアミノ酸が挿入されたアミノ酸配列、4) 配列番号 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22 または 24 に示されるアミノ酸配列中の 1 または 2 個以上（好ましくは 1～30 個程度、より好ましくは 1～10 個程度、特に好ましくは数（1～5）個）のアミノ酸が他のアミノ酸で置換されたアミノ酸配列、または 5) それらを組み合わせたアミノ酸配列を含有する蛋白質などが含ま
- 15
- 20
- 25

れる。

上記のようにアミノ酸配列が挿入、欠失または置換されている場合、その挿入、欠失または置換の位置は特に限定されない。

より具体的には、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、  
5 17、19、21 および 23 に示される各塩基配列と実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子として、各配列番号に示される塩基配列を有する遺伝子のアレル変異体や、該遺伝子の非ヒト哺乳動物（例：サル、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、ハムスター、モルモット、マウス、ラット等）におけるオルソログ（ortholog）などが該当  
10 する。

本発明のヒト由来 PLsis マーカー遺伝子の塩基配列（すなわち、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および  
23 に示される塩基配列）はいずれも公知であり、GenBank データベース上で、それぞれ NM\_014960、U47674、NM\_024307、D63807、NM\_021969、  
15 NM\_001443、NM\_002151、NM\_001085、AL136653、NM\_022823、NM\_006931 および NM\_003186 の登録番号を付されて公開されている。

配列番号 1 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「kiaa1001」と略記する場合がある）は、スルファターゼファミリーに属するリソソーム酵素、KIAA1001 蛋白質をコード  
20 している。

配列番号 3 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「asah1」と略記する場合がある）は、セラミド代謝に関与するリソソーム酵素であり、ヒトにおいてはその欠損によりファバー病（セラミド蓄積症）を生じる N-アシルスフィンゴシン  
25 アミドヒドロラーゼ（酸性セラミダーゼ）1 をコードしている。

配列番号 5 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配

列を有する遺伝子（以下、「mgc4171」と略記する場合がある）は、リン脂質の分解に関与するグリセロホスホリルジエステル ホスホジエステラーゼファミリーに属する MGC4171 蛋白質をコードしている。

5 配列番号 7 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「lss」と略記する場合がある）は、コレステロール合成に関与するラノステロールシンターゼをコードしている。

配列番号 9 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「nr0b2」と略記する場合がある）は、コレステロール 7  $\alpha$ -ヒドロキシラーゼ (CYP7A1) の発現調節に関わる核内受容体蛋白質（サブファミリー 0, グループ b, メンバー 2）をコードしている。

配列番号 11 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「fabp1」と略記する場合がある）は、脂質輸送に関与する肝脂肪酸結合蛋白質 1 をコードしている。

15 上記 6 つの遺伝子は、一般的に PLsis 誘発との関連性が示唆され得るリソソーム酵素および脂質代謝関連蛋白質をコードしているが、これら個々の遺伝子の発現が薬物の PLsis 誘発ポテンシャルと実際に相関することについてはこれまで報告されていない。

配列番号 13 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「hpn」と略記する場合がある）は、膜貫通型セリンプロテアーゼであるヘプシンをコードしている。

配列番号 15 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「serpina3」と略記する場合がある）は、セリン（システイン）プロテアーゼインヒビター（クレード A, メンバー 3）をコードしている。

配列番号 17 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基

配列を有する遺伝子（以下、「depp」と略記する場合がある）は、プロゲステロンにより誘導される脱落膜由来蛋白質をコードしている。

配列番号 19 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「flj22362」と略記する場合がある）は、  
5    フィブロネクチン タイプ III とホモロジーの高い蛋白質（FLJ22362）をコードしている。

配列番号 21 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「slc2a3」と略記する場合がある）は、グルコース輸送担体である溶質キャリアーファミリーに属する蛋白質（ファ  
10    ミリー 2, メンバー 3）をコードしている。

配列番号 23 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子（以下、「tagln」と略記する場合がある）は、細胞骨格蛋白質であるトランスゲリンをコードしている。

これら 6 つの遺伝子にコードされる蛋白質は、一般的にも PLsis 誘発  
15    との関連性が全く知られていない。

配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17 および 19 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子は、PLsis 発現と相関して発現が増加し、一方、配列番号 21 および  
20    23 に示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子は、PLsis 発現と相関して発現が減少する。

本発明の PLsis 誘発ポテンシャル予測用試薬（以下、「本発明の試薬」と略記する場合がある）に含有される PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸としては、例えば、PLsis マーカー遺伝子の転写産物とハイブリダイズし得る核酸（プローブ）や、該転写産物の一部もしくは全  
25    部を増幅するプライマーとして機能し得るオリゴヌクレオチドのセットなどが挙げられる。すなわち、該核酸としては、配列番号 1、3、5、

7、9、11、13、15、17、19、21および23のいずれかに示される塩基配列を有する核酸（センス鎖＝コード鎖）とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸（アンチセンス鎖＝非コード鎖）とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸が好ましく例示される。「ハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る」とは上記と同義である。該核酸はDNAであってもRNAであってもよく、あるいはDNA/RNAキメラであってもよい。好ましくはDNAが挙げられる。

10      プローブとして用いられる核酸は、二本鎖であっても一本鎖であってもよい。二本鎖の場合は、二本鎖DNA、二本鎖RNAまたはDNA:RNAのハイブリッドでもよい。一本鎖の場合は、供される試料に応じてセンス鎖（例：cDNA、cRNAの場合）またはアンチセンス鎖（例：mRNA、cDNAの場合）を選択して用いることができる。該核酸の長さは標的核酸と特異的にハイブリダイズし得る限り特に制限はなく、例えば約15塩基以上、好ましくは約30塩基以上である。該核酸は、標的核酸の検出・定量を可能とするために、標識剤により標識されていることが好ましい。標識剤としては、例えば、放射性同位元素、酵素、蛍光物質、発光物質などが用いられる。放射性同位元素としては、例えば、 $[^{32}\text{P}]$ 、 $[^3\text{H}]$ 、 $[^{14}\text{C}]$ などが用いられる。酵素としては、安定で比活性の大きなものが好ましく、例えば、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、 $\beta$ -グルコシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、パーオキシダーゼ、リンゴ酸脱水素酵素などが用いられる。蛍光物質としては、例えば、フルオレスカミン、フルオレッセンイソチオシアネートなどが用いられる。発光物質としては、例えば、ルミノール、ルミノール誘導体、ルシフェリン、ルシゲニンなどが用いられる。さらに、プローブと標識剤との結合



にビオチン（ストレプト）アビジンを用いることもできる。一方、プローブとなる核酸を固相上に固定化する場合には、試料中の核酸を上記と同様の標識剤を用いて標識することができる。

プライマーとして用いられるオリゴヌクレオチドのセットとしては、  
5 各配列番号に示される塩基配列（センス鎖）およびそれに相補的な塩基配列（アンチセンス鎖）とそれぞれ特異的にハイブリダイズすることができ、それらに挟まれるDNA断片を増幅し得るものであれば特に制限はなく、例えば、各々約15～約100塩基、好ましくは各々約15～約50塩基の長さを有し、約100bp～数kbpのDNA断片を増幅  
10 するようにデザインされたオリゴDNAのセットが挙げられる。

微量RNA試料を用いてPLsis マーカー遺伝子の発現を定量的に解析するためには、競合RT-PCRまたはリアルタイムRT-PCRを用いることが好ましい。競合RT-PCRとは、目的のDNAを増幅し得るプライマーのセットにより増幅され得る既知量の他の鋳型核酸を  
15 competitor として反応液中に共存させて競合的に増幅反応を起こさせ、増幅産物の量を比較することにより、目的DNAの量を算出する方法をいう。従って、競合RT-PCRを用いる場合、本発明の試薬は、上記プライマーセットに加えて、該プライマーセットにより増幅され、目的DNAと区別することができる増幅産物（例えば、目的のDNAとはサ  
20 イズの異なる増幅産物、制限酵素処理により異なる泳動パターンを示す増幅産物など）を生じる核酸をさらに含有することができる。このcompetitor 核酸はDNAであってもRNAであってもよい。DNAの場合、RNA試料から逆転写反応によりcDNAを合成した後にcompetitor を添加してPCRを行えばよく、RNAの場合は、RNA試  
25 料に最初から添加してRT-PCRを行うことができる。後者の場合、逆転写反応の効率も考慮に入れているので、元のmRNAの絶対量を推

定することができる。

一方、リアルタイム R T - P C R は、P C R の増幅量をリアルタイムでモニタリングできるので、電気泳動が不要で、より迅速に P L s i s マー  
カー遺伝子の発現を解析可能である。通常、モニタリングは種々の蛍光  
5 試薬を用いて行われる。これらの中には、SYBR Green I、エチジウムブ  
ロマイド等の二本鎖 D N A に結合することにより蛍光を発する試薬（イ  
ンターカレーター）の他、上記プローブとして用いることができる核酸  
（但し、該核酸は増幅領域内で標的核酸にハイブリダイズする）の両端  
をそれぞれ蛍光物質（例：FAM、HEX、TET、FITC 等）および消光物質（例：  
10 TAMRA、DABCYL 等）で修飾したもの等が含まれる。

P L s i s マーカー遺伝子の発現を検出し得るプローブとして機能する核酸は、該遺伝子の転写産物の一部もしくは全部を増幅し得る上記プライ  
マーセットを用い、哺乳動物（例：ヒト、サル、ウシ、ウマ、ブタ、ヒ  
ツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、ハムスター、モルモット、マウス、  
15 ラット等）のあらゆる細胞〔例えば、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓β細胞、骨髄細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、杯細胞、内皮細胞、平滑筋細胞、繊維芽細胞、繊維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T細胞、B細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、好酸球、  
20 単球）、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、肝細胞もしくは間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など〕もしくはそれらの細胞が存在するあらゆる組織〔例えば、脳、脳の各部位（例、嗅球、扁桃核、大脳基底球、海馬、視床、視床下部、大脳皮質、延髄、小脳）、脊髄、下垂体、胃、膵臓、腎  
25 臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆嚢、骨髄、副腎、皮膚、肺、消化管（例、大腸、小腸）、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、前立腺、睾丸、

卵巣、胎盤、子宮、骨、関節、脂肪組織、骨格筋など] 由来の cDNA もしくはゲノムDNAを鋳型としてPCR法によって所望の長さの核酸を増幅するか、前記した細胞・組織由来のcDNAもしくはゲノムDNAライブラリーから、コロニーもしくはプラークハイブリダイゼーション等により上記PLsis マーカー遺伝子もしくはcDNAをクローニングし、必要に応じて制限酵素等を用いて適当な長さの断片とすることにより取得することができる。ハイブリダイゼーションは、例えば、モレキュラー・クローニング (Molecular Cloning) 第2版 (前述) に記載の方法などに従って行なうことができる。また、市販のライブラリーを使用する場合、ハイブリダイゼーションは、該ライブラリーに添付された使用説明書に記載の方法に従って行なうことができる。あるいは、該核酸は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23に示される各塩基配列情報に基づいて、該塩基配列および/またはその相補鎖配列の一部もしくは全部を市販のDNA/RNA自動合成機等を用いて化学的に合成することによっても得ることができる。また、シリコンやガラス等の固相上で該核酸を直接 in situ (on chip) 合成することにより、該核酸が固相化されたチップを作成することもできる。

PLsis マーカー遺伝子の転写産物の一部もしくは全部を増幅し得るプライマーとして機能する核酸は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23に示される各塩基配列情報に基づいて、該塩基配列およびその相補鎖配列の一部を市販のDNA/RNA自動合成機等を用いて化学的に合成することによって得ることができる。

PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸は、乾燥した状態もしくはアルコール沈澱の状態、固体として提供することもできるし、水

もしくは適当な緩衝液（例：T E 緩衝液等）中に溶解した状態で提供することもできる。標識プローブとして用いられる場合、該核酸は予め上記のいずれかの標識物質で標識した状態で提供することもできるし、標識物質とそれぞれ別個に提供され、用時標識して用いることもできる。

5      あるいは、該核酸は、適当な固相に固定化された状態で提供することもできる。固相としては、例えば、ガラス、シリコン、プラスチック、ニトロセルロース、ナイロン、ポリビニリデンジフロリド等が挙げられるが、これらに限定されない。また、固定化手段としては、予め核酸にアミノ基、アルデヒド基、S H 基、ビオチンなどの官能基を導入してお  
10      き、一方、固相上にも該核酸と反応し得る官能基（例：アルデヒド基、アミノ基、S H 基、ストレプトアビジンなど）を導入し、両官能基間の共有結合で固相と核酸を架橋したり、ポリアニオン性の核酸に対して、固相をポリカチオンコーティングして静電結合を利用して核酸を固定化するなどの方法が挙げられるが、これらに限定されない。

15      核酸プローブが固相に固定化された状態で提供される好ましい一例として、High Throughput Genomics 社より提供される ArrayPlate<sup>TM</sup> 等が挙げられる。ArrayPlate<sup>TM</sup> は 96 ウェルプレートの各ウェル底面に種々の核酸プローブが規則正しく配置した状態（例、4×4 アレイ）で固定化されたものである。プローブとハイブリダイズし得る一端と標的核酸  
20      とハイブリダイズし得る他端とを有する核酸をスペーサーとして介在させることで、プローブと標的核酸とのハイブリダイゼーション反応を固相表面上ではなく液相中で行わせることができ、標的核酸の定量的な測定が可能となる。従って、単一のウェルで種々の PLsis マーカー遺伝子の発現変動を同時に一括検出することができ、十分な定量性が得られ  
25      ば、各マーカー遺伝子の発現変動を別個に検出するリアルタイム P C R よりもさらに効率がよいという利点を有する。

本発明の試薬に関し、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有する遺伝子を検出し得る核酸を含有する場合を強調して説明してきたが、本発明の試薬は、上記 12 個の

5 PLsis マーカー遺伝子以外の PLsis マーカー遺伝子、例えば、リソソーム酵素をコードする遺伝子、脂質代謝（例：コレステロール合成、脂肪酸伸長反応、不飽和脂肪酸合成等）関連蛋白質をコードする遺伝子、輸送（例：脂肪酸輸送、蛋白質輸送、アミノ酸輸送等）関連蛋白質をコードする遺伝子、細胞増殖関連蛋白質をコードする遺伝子、プロテアーゼ

10 もしくはプロテアーゼインヒビターをコードする遺伝子、アミノ酸代謝関連蛋白質をコードする遺伝子など、より具体的には、GenBank データベースに、それぞれ NM\_000859、AL518627、NM\_002130、AA639705、BC005807、AF116616、NM\_025225、D80010、NM\_001731、AW134535、NM\_004354、AF135266、AC007182、NM\_003832、NM\_019058、AB040875、AA488687、NM\_018687、

15 NM\_021158、BG231932、NM\_000235、AA873600、AF096304、AW150953、NM\_001360、AC001305、NM\_024090、NM\_006214、NM\_024108、NM\_021980、AF003934、NM\_000596、U15979、M92934、NM\_002087、AK023348、NM\_002773、NM\_000131、BC003169、NM\_002217、NM\_003122、NM\_001673、NM\_000050、U08024、NM\_003167、BC005161、AF162690、AW517464、AF116616、NM\_017983、

20 NM\_016061、BE966922、BE552428、NM\_012445、NM\_000792、NM\_015930、NM\_021800、NM\_005980、NM\_000565、AB033025、AL110298、NM\_006931、NM\_001955、NM\_003897、AA778684、NM\_001283、NM\_012242、AI934469、NM\_003186 および NM\_002450 の ID を付されて登録されている塩基配列を有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等を

25 検出し得る核酸を含有するものであってもよい。

本発明の試薬は、PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸に加

えて、該遺伝子の発現を検出するための反応において必要な他の物質であって、共存状態で保存することにより反応に悪影響を及ぼさない物質をさらに含有することができる。あるいは、本発明の試薬は、PLsis マーカ

5 ー遺伝子の発現を検出するための反応において必要な他の物質を含有する別個の試薬とともにキット化して提供することもできる。例えば、PLsis マーカ

ー遺伝子の発現を検出するための反応がPCRの場合、当該他の物質としては、例えば、反応緩衝液、dNTPs、耐熱性DNA

ポリメラーゼ等が挙げられる。競合PCRやリアルタイムPCRを用いる場合は、competitor 核酸や蛍光試薬（上記インターカレーターや蛍光

10 プローブ等）などをさらに含むことができる。

個々のPLsis マーカー遺伝子は、すべてのPLsis 誘発化合物について発現が変動し、すべてのPLsis 非誘発化合物について実質的に発現が変動しないというものではない。そのため、個々のマーカー遺伝子の発現を単独の指標とした場合、ある程度の偽陽性および偽陰性化合物の出現

15 は避けられない。しかしながら、複数のPLsis マーカー遺伝子の発現変動を調べることにより、予測的中率をさらに向上させることができる。

したがって、本発明はまた、PLsis マーカー遺伝子を検出し得る核酸を含有する2以上の試薬を組み合わせる、薬物のPLsis 誘発ポテン

シャル予測用キットを提供する。ここで各試薬中に含有される核酸は、

20 互いに異なるPLsis マーカー遺伝子を検出し得るものである。検出対象となるPLsis マーカー遺伝子は特に制限はなく、上記した通りのものが同様に例示されるが、好ましくは、該試薬の少なくとも1つは、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配

25 列を有する遺伝子を検出し得る核酸を含有するものである。より好ましくは、上記12個のPLsis マーカー遺伝子のうちのいずれか2個以上、

さらに好ましくは3個以上、いっそう好ましくは4個以上、特に好ましくは5個以上、最も好ましくは6個以上を検出対象とするキットが挙げられる。

5      キットを構成する各試薬中に含有される核酸は、同一の方法（例：ノーザンブロット、ドットブロット、DNAアレイ技術、定量RT-PCR等）により PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得るように構築されていることが特に好ましい。

10      あるいは、好適なマーカー遺伝子の組み合わせとして、哺乳動物細胞を試験化合物に曝露した際の発現の平均変動率（後記 PLsis 誘発ポテンシャル予測方法の説明において詳述する）を指標とした場合に、PLsis 誘発ポテンシャルの予測的中率が約70%以上である組み合わせ、より好ましくは約80%以上、さらに好ましくは約90%以上、特に好ましくは約95%以上である組み合わせが挙げられる。ここで予測が的中するとは、PLsis 陽性であると予測された化合物を哺乳動物細胞に曝露した際に細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物が観察され、PLsis 陰性であると予測された化合物を哺乳動物細胞に曝露した際に細胞内にミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物が観察されないことをいう。本明細書において、予測的中率は、図1～3に記載の PLsis 陽性化合物および図4～5  
15      20      に記載の PLsis 陰性化合物を基準化合物として算定される。

本発明のキットの構成として、上記本発明の試薬がそれぞれ別個に提供されるもの〔例：核酸が標識プローブ（特にドットブロット解析の場合）やPCR（特にリアルタイム定量PCR）用プライマーとして機能する場合等〕、異なる PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸が同一の試薬中に含有されて提供されるもの〔例：核酸がPCR（特に、増幅産物のサイズ等により各マーカー遺伝子を区別し得る場合）や標識プ  
25

ローブ（特に、ノーザンブロット解析で転写産物のサイズにより各マーカー遺伝子を区別し得る場合）として機能する場合等]、あるいは、異なる PLsis マーカー遺伝子の発現を検出し得る核酸が、同一の固相の別個の領域にそれぞれ固定化されて提供されるもの [例：標識 cRNA 等とのハイブリダイゼーション用プローブとして機能する場合等] などが例示されるが、これらに限定されない。

本発明はまた、試験化合物を哺乳動物細胞含有試料またはヒトもしくは非ヒト哺乳動物に曝露した際の、1 以上の PLsis マーカー遺伝子の発現変動を検出することを特徴とする、化合物の PLsis 誘発ポテンシャルの予測方法を提供する。

本発明の方法により試験される化合物としては、例えば、医薬または動物薬の候補化合物などが挙げられる。特に、迅速に多検体を処理できるという点から、創薬初期段階で合成される多数の候補化合物群への適用が好ましい。この場合、細胞含有試料または非ヒト哺乳動物が被験体として用いられる。一方、PLsis マーカー遺伝子の発現変動は血液などの容易にサンプリングが可能な細胞含有試料を用いて測定することができるので、臨床試験という医薬品開発の最終段階においても好ましく使用し得る。

使用される哺乳動物細胞含有試料としては、哺乳動物（例：ヒト、サル、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、ウサギ、ハムスター、モルモット、マウス、ラット等）、望ましくは試験化合物の投与対象とされる哺乳動物のあらゆる細胞 [例えば、肝細胞、脾細胞、神経細胞、グリア細胞、膵臓  $\beta$  細胞、骨髓細胞、メサングウム細胞、ランゲルハンス細胞、表皮細胞、上皮細胞、杯細胞、内皮細胞、平滑筋細胞、線維芽細胞、線維細胞、筋細胞、脂肪細胞、免疫細胞（例、マクロファージ、T 細胞、B 細胞、ナチュラルキラー細胞、肥満細胞、好中球、好塩基球、



好酸球、単球)、巨核球、滑膜細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨芽細胞、破骨細胞、乳腺細胞、間質細胞、またはこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞など] もしくはそれらの細胞が存在するあらゆる組織[例えば、脳、脳の各部位(例、嗅球、扁桃核、大脳基底球、海馬、視床、  
5 視床下部、大脳皮質、延髄、小脳)、脊髄、下垂体、胃、脾臓、腎臓、肝臓、生殖腺、甲状腺、胆嚢、骨髓、副腎、皮膚、肺、消化管(例、大腸、小腸)、血管、心臓、胸腺、脾臓、顎下腺、末梢血、前立腺、睾丸、卵巢、胎盤、子宮、骨、関節、脂肪組織、骨格筋など]、あるいは上記の細胞・組織から樹立される細胞株などが例示される。好ましくは、肝細胞、腎  
10 細胞、単球、末梢血リンパ球、線維芽細胞、副腎ステロイド産生細胞、精巢細胞、卵巢細胞、腹腔マクロファージ、肺胞上皮細胞、気管支上皮細胞、肺胞マクロファージ等が挙げられる。また、再現性の良さや(特にヒト細胞の場合)入手の容易さ等から細胞株の使用が好ましい。例えば、ヒト細胞株としては、肝癌由来の HepG2 細胞株、リンパ腫由来の U-937  
15 細胞株、単球由来の THP-1 細胞株、大腸癌由来の Caco-2 細胞株、子宮頸癌由来の HeLa 細胞株等が挙げられる。

一方、非ヒト哺乳動物としては、ラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、マウス、サル、イヌ、ブタ、ネコ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、ウシ等が例示されるがこれらに限定されない。好ましくは、ラット、ハム  
20 ター、モルモット、ウサギ、マウス、サル、イヌ等である。

哺乳動物細胞含有試料を試験化合物に曝露する方法は特に制限はないが、具体的には、例えば、細胞株を試料として用いる場合、適当な培地中、好適な条件下で培養した細胞増殖期の細胞を、トリプシン-EDTAなどを用いて剥離させ、遠心して細胞を回収した後、適当な培地[例：  
25 約5～約20%の胎仔ウシ血清(FBS)を含むMEM培地(Science, 122: 501 (1952))、DMEM培地(Virology, 8: 396 (1959))、RPMI 1

6 4 0 培地 (The Journal of the American Medical Association, 199: 519 (1967))、1 9 9 培地 (Proceeding of the Society for the Biological Medicine, 73: 1 (1950)) など (必要に応じて、ペニシリン、ストレプトマイシン、ハイグロマイシン等の抗生物質をさらに添加してもよい)]

5 を加えて所望の細胞密度となるように懸濁する。細胞密度は、遺伝子発現およびその変動が検出可能であれば特に限定されないが、細胞が細胞増殖期の状態を保つように調整することが好ましい。したがって、好ましい当初細胞密度は使用する細胞の増殖速度等によって異なり、当業者であれば使用する細胞に応じて容易に設定することができるが、通常約  
10  $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^7$  cells/mL である。適当な溶媒に溶解した試験化合物を培地でさらに希釈し、終濃度が、例えば細胞が生存し得る最高濃度 (当該濃度は、別途組織学的観察を行って決定することができる) となるように、上記細胞懸濁液に添加して、通常条件下、例えば、CO<sub>2</sub> インキュベーター中で、5 % CO<sub>2</sub> / 95 % 大気、5 % CO<sub>2</sub> / 5 % O<sub>2</sub> / 90 % 大気等の雰囲気下、約 30 ~ 約 40 °C で、約 0.5 ~ 約 168  
15 時間、好ましくは約 3 ~ 約 48 時間、より好ましくは約 23 ~ 約 25 時間培養する。

哺乳動物を試験化合物に曝露する方法は、標的細胞 (後に PLsis マーカー遺伝子の発現変動を調べるために該動物から採取する試料中に含まれる細胞) に十分量の試験化合物が到達するように、試験化合物を該動物に投与するものであれば特に制限はなく、例えば、試験化合物を固形、半固形、液状、エアロゾル等の形態で経口的もしくは非経口的 (例: 静脈内、筋肉内、腹腔内、動脈内、皮下、皮内、気道内等) に投与することができる。試験化合物の投与量は、化合物の種類、動物種、体重、投  
25 与形態などによって異なり、例えば、動物が生存し得る範囲で、標的細胞が生存し得る最高濃度の試験化合物に一定時間以上曝露され得るのに

必要な量などが挙げられる。投与は1回ないし数回に分けて行うことができる。投与から試料採取までの時間は試験化合物の体内動態等によって異なるが、通常、初回投与から約3時間～約3日間である。

試験化合物を投与された哺乳動物から採取される試料としては、哺乳  
5 動物細胞含有試料について例示された種々の細胞を含有するものが好ましく挙げられるが、迅速且つ簡便に採取することができ、動物への侵襲が少ないなどの点から、血液（例：末梢血）等が特に好ましい。

本発明の予測方法において発現変動を調べられる PLsis マーカー遺伝子は特に制限されないが、例えば、リソソーム酵素をコードする遺伝子、  
10 脂質代謝（例：コレステロール合成、脂肪酸伸長反応、不飽和脂肪酸合成等）関連蛋白質をコードする遺伝子、輸送（例：脂肪酸輸送、蛋白質輸送、アミノ酸輸送等）関連蛋白質をコードする遺伝子、細胞増殖関連蛋白質をコードする遺伝子、プロテアーゼもしくはプロテアーゼインヒビターをコードする遺伝子、アミノ酸代謝関連蛋白質をコードする遺伝  
15 子などが挙げられる。より具体的には、PLsis と相関して発現が増加する遺伝子としては、GenBank データベースに、それぞれ NM\_014960、NM\_000859、AL518627、NM\_002130、AA639705、BC005807、AF116616、NM\_025225、U47674、D80010、NM\_001731、AW134535、NM\_004354、AF135266、AC007182、NM\_003832、NM\_019058、AB040875、AA488687、NM\_018687、  
20 NM\_021158、BG231932、NM\_024307、NM\_000235、AA873600、D63807、AF096304、AW150953、NM\_001360、NM\_021969、AC001305、NM\_024090、NM\_001443、NM\_006214、NM\_024108、NM\_021980、NM\_002151、AF003934、NM\_000596、U15979、M92934、NM\_002087、AK023348、NM\_002773、NM\_000131、BC003169、NM\_002217、NM\_003122、NM\_001673、NM\_000050、NM\_001085、U08024、  
25 NM\_003167、BC005161、AF162690、AW517464、AF116616、NM\_017983、AL136653、NM\_016061、BE966922、BE552428、NM\_022823、NM\_012445、NM\_000792、

NM\_015930、NM\_021800、NM\_005980、NM\_000565 および AB033025 の I D を付されて登録されている塩基配列を含有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等が挙げられる。一方、PLsis と関連して発現が減少する遺伝子としては、GenBank データベースに、それぞれ NM\_006931、AL110298、NM\_006931、NM\_001955、NM\_003897、NM\_003186、AA778684、NM\_001283、NM\_012242、AI934469、NM\_003186 および NM\_002450 の I D を付されて登録されている塩基配列を有するヒト遺伝子および他の哺乳動物におけるそれらのホモログ等が挙げられる。

好ましくは、本発明の予測方法において発現変動を調べられる PLsis マーカー遺伝子の少なくとも 1 つは、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである。より好ましくは、上記 12 個の PLsis マーカー遺伝子のうちのいずれか 2 個以上、さらに好ましくは 3 個以上、いっそう好ましくは 4 個以上、特に好ましくは 5 個以上、最も好ましくは 6 個以上を検出対象とする方法が挙げられる。

あるいは、好適なマーカー遺伝子の組み合わせとして、本予測方法において全マーカー遺伝子の発現の平均変動率を指標とした場合に、PLsis 誘発ポテンシャルの予測的中率が約 70% 以上である組み合わせ、より好ましくは約 80% 以上、さらに好ましくは約 90% 以上、特に好ましくは約 95% 以上である組み合わせが挙げられる。本発明の予測方法において「平均変動率」とは以下のように定義される。すなわち、各マーカー遺伝子について、哺乳動物（細胞）を試験化合物に曝露したときと曝露しなかったときとでそれぞれ発現量を測定し、曝露したときに発現量が増加した場合はその倍率（例えば、2 倍に増加した場合は 2）を、減少した場合はその倍率の逆数（例えば、1/2 に減少した場合は 2）

を、それぞれの遺伝子についての発現変動率（X）とし、全マーカー遺伝子（n 個）の発現変動率の平均値を平均変動率と定義する（下式）。

〔数 1〕

$$[\text{平均変動率}] = m_1 X_1 + m_2 X_2 + \cdots + m_n X_n$$

5 (但し、 $m_1 + m_2 + \cdots + m_n = 1$ )

上式において  $m_i$  ( $i = 1 \sim n$ ) は各遺伝子の重みを表す。重みに特に制限はないが、好ましくは  $m_i \times n = 0.2 \sim 5$  であり、例えば、全て同じ重み ( $m_i = 1/n$ ) が挙げられる。

本発明の方法においては、この平均変動率が、後述する方法により決定された基準値以上の場合は PLsis 陽性、基準値未満の場合は PLsis 陰性と予測する。

試験化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料および試験化合物を投与された哺乳動物から採取した試料における PLsis マーカー遺伝子の発現は、該試料から RNA（例：全 RNA、mRNA）画分を調製し、該  
15 画分中に含まれる該マーカー遺伝子の転写産物を検出することにより調べることができる。RNA 画分の調製は、グアニジン-CsCl 超遠心法、AGPC 法など公知の手法を用いて行うことができるが、市販の RNA 抽出用キット（例：RNeasy Mini Kit; QIAGEN 製等）を用いて、微量試料から迅速且つ簡便に高純度の全 RNA を調製することができる。

20 RNA 画分中の PLsis マーカー遺伝子の転写産物を検出する手段としては、例えば、ハイブリダイゼーション（ノーザンブロット、ドットブロット、DNA チップ解析等）を用いる方法、あるいは PCR（RT-PCR、競合 PCR、リアルタイム PCR 等）を用いる方法などが挙げられる。微量試料から迅速且つ簡便に定量性よく PLsis マーカー遺伝子の  
25 発現変動を検出できる点で競合 PCR やリアルタイム PCR などの定量的 PCR 法が、また、複数のマーカー遺伝子の発現変動を一括検出する

ことができ、検出方法の選択によって定量性も向上させ得るなどの点でDNAチップ解析が好ましい。

ノーザンブロットまたはドットブロットハイブリダイゼーションによる場合、PLsis マーカー遺伝子の検出は、標識プローブとして用いられる核酸を含有する上記本発明の試薬またはキットを用いて行うことができる。すなわち、ノーザンハイブリダイゼーションによる場合は、上記のようにして調製したRNA画分をゲル電気泳動にて分離した後、ニトロセルロース、ナイロン、ポリビニリデンジフロリド等のメンブレンに転写し、本発明の試薬または本発明のキット中に含まれる各試薬を含むハイブリダイゼーション緩衝液中、上記「ハイストリンジェントな条件下で」ハイブリダイゼーションさせた後、適当な方法でメンブレンに結合した標識量をバンド毎に測定することにより、各 PLsis マーカー遺伝子の発現量を測定することができる。ドットブロットの場合も、RNA画分をスポットしたメンブレンを同様にハイブリダイゼーション反応に付し（各 PLsis マーカー遺伝子についてそれぞれ行う）、スポットの標識量を測定することにより、各マーカー遺伝子の発現量を測定することができる。

DNAチップ解析（上記本発明の試薬において記載した固相化プローブ）による場合、例えば、上記のようにして調製したRNA画分から、逆転写反応によりT7プロモーター等の適当なプロモーターを導入したcDNAを合成し、さらにRNAポリメラーゼを用いてcRNAを合成する（この時ビオチンなどで標識したモノヌクレオチドを基質として用いることにより、標識されたcRNAが得られる）。この標識cRNAを上記固相化プローブと接触させてハイブリダイゼーション反応させ、固相上の各プローブに結合した標識量を測定することにより、各 PLsis マーカー遺伝子の発現量を測定することができる。当該方法は、検出する

PLsis マーカー遺伝子（従って、固相化されるプローブ）の数が多くなるほど、迅速性および簡便性の面で有利である。

好ましい実施態様によれば、本発明の予測方法において、PLsis マーカー遺伝子の発現を検出する方法として定量的 PCR 法が用いられる。

- 5 定量的 PCR としては、例えば、競合 PCR やリアルタイム PCR などがあるが、増幅反応後の電気泳動が不要であるという点でリアルタイム PCR がより迅速性に優れている。

- 競合 PCR による場合、上記本発明の試薬において記載したプライマーセットに加えて、該プライマーセットで増幅でき、増幅後に標的核酸  
10 （すなわち、PLsis マーカー遺伝子の転写産物）の増幅産物と区別することができる（例えば、増幅サイズが異なる、制限酵素処理断片の泳動パターンが異なるなど）既知量の competitor 核酸が用いられる。標的核酸と competitor 核酸とはプライマーを奪い合って増幅が競合的に起こるので、増幅産物の量比が元の鋳型の量比を反映することになる。
- 15 competitor 核酸は DNA でも RNA でもよい。DNA の場合、上記のようにして調製される RNA 画分から逆転写反応により cDNA を合成した後に、本発明の試薬および competitor の共存下で PCR を行えばよく、RNA の場合は、RNA 画分に competitor を添加して逆転写反応を行い、さらに本発明の試薬を添加して PCR を実施すればよい。

- 20 一方、リアルタイム PCR は、蛍光試薬を用いて増幅量をリアルタイムでモニタリングする方法であり、サーマルサイクラーと分光蛍光光度計を一体化した装置を必要とする。このような装置は市販されている。用いる蛍光試薬によりいくつかの方法があり、例えば、インターカレンター法、TaqMan<sup>TM</sup> プローブ法、Molecular Beacon 法等が挙げられる。い  
25 ずれも、上記のようにして調製される RNA 画分から逆転写反応により cDNA を合成した後に、本発明の試薬とインターカレーター、TaqMan<sup>TM</sup>

プローブまたは Molecular Beacon プローブと呼ばれる蛍光試薬（プローブ）をそれぞれ PCR 反応系に添加するというものである。インターカレーターは合成された二本鎖 DNA に結合して励起光の照射により蛍光を発するので、蛍光強度を測定することにより増幅産物の生成量をモニタリングすることができ、それによって元の鋳型 cDNA 量を推定することができる。TaqMan<sup>TM</sup> プローブは両端を蛍光物質と消光物質をそれぞれで修飾した、標的核酸の増幅領域にハイブリダイズし得るオリゴヌクレオチドであり、アニーリング時に標的核酸にハイブリダイズするが消光物質の存在により蛍光を発せず、伸長反応時に DNA ポリメラーゼのエキソヌクレアーゼ活性により分解されて蛍光物質が遊離することにより蛍光を発する。従って、蛍光強度を測定することにより増幅産物の生成量をモニタリングすることができ、それによって元の鋳型 cDNA 量を推定することができる。Molecular Beacon プローブは両端を蛍光物質と消光物質をそれぞれで修飾した、標的核酸の増幅領域にハイブリダイズし得るとともにヘアピン型二次構造をとり得るオリゴヌクレオチドであり、ヘアピン構造をとっている時は消光物質の存在により蛍光を発せず、アニーリング時に標的核酸にハイブリダイズして蛍光物質と消光物質との距離が広がることにより蛍光を発する。従って、蛍光強度を測定することにより増幅産物の生成量をモニタリングすることができ、それによって元の鋳型 cDNA 量を推定することができる。

本発明の予測方法において、化合物の PLsis 誘発ポテンシャルの有無を判定する基準は、その基準に基づく予測結果が化合物スクリーニング系としての使用に堪え得る程度に十分な信頼性を有する限り特に制限されない。例えば、(1) 検出対象であるすべての PLsis マーカー遺伝子について、試験化合物の曝露により実質的に発現が増加または減少する（ここで「実質的に発現が増加または減少」とは上記と同義である）場合に



PLsis 陽性であると判定し、いずれかの PLsis マーカー遺伝子について、試験化合物の曝露により実質的に発現が変動しない（ここで「実質的に発現が変動しない」とは上記と同義である）場合に PLsis 陰性であると判定する方法、(2) 検出対象であるすべての PLsis マーカー遺伝子について、試験化合物の曝露により実質的に発現が変動しない場合に PLsis 陰性であると判定し、いずれかの PLsis マーカー遺伝子について、試験化合物の曝露により実質的に発現が増加または減少する場合に PLsis 陽性であると判定する方法、(3) 検出対象である  $n$  個の PLsis マーカー遺伝子のうち一定数（例えば、 $2 \sim (n - 1)$  個）以上について、試験化合物の曝露により実質的に発現が増加または減少する場合に PLsis 陽性であると判定する方法などが挙げられる。しかしながら、上記(1)の方法によれば、偽陽性化合物の出現頻度を低減することはできるが、偽陰性化合物の出現頻度が多くなり、相当数の PLsis 誘発化合物が排除されないという欠点がある。一方、(2)の方法によれば、偽陰性化合物の出現頻度を低減することはできるが、偽陽性化合物の出現頻度が多くなり、有望な化合物を排除して医薬品等の開発の幅を狭める可能性がある。

本発明は、選択された PLsis マーカー遺伝子の組み合わせにおいて、系の信頼性（予測的中率）を最大限に向上するための判定基準の決定方法を提供する。すなわち、当該方法は、哺乳動物細胞含有試料またはヒトもしくは非ヒト哺乳動物を、2 以上（好ましくは 5 以上、より好ましくは 10 以上、さらに好ましくは 15 以上）の既知 PLsis 誘発化合物（例えば、図 1～3 に記載される化合物）および 2 以上（好ましくは 5 以上、より好ましくは 10 以上、さらに好ましくは 15 以上）の既知 PLsis 非誘発化合物（例えば、図 4～5 に記載される化合物）の各々に曝露し、該試料もしくは該哺乳動物より採取した試料において、選択された 1 以上の PLsis マーカー遺伝子の発現変動を検出し、該マーカー遺伝子の発

現の平均変動率（ここで「平均変動率」は上記と同義である）と、現実の PLsis 誘発ポテンシャルの有無とを比較することを特徴とする。尚、本発明において、現実の PLsis 誘発ポテンシャルの有無は、哺乳動物細胞を化合物で曝露した際に細胞内にミエリン構造物あるいはその早期像  
5 である電子密度の高い構造物の出現を認めるか否かによって決定されるものとする。

比較の結果、上記の既知 PLsis 誘発および非誘発化合物の PLsis 誘発性の有無を、約 70% 以上、好ましくは約 80% 以上、より好ましくは約 90% 以上、特に好ましくは約 95% 以上の確率で正しく判定することができる平均変動率の値を求め、これを基準値とする。例えば、図 1  
10 ～ 5 記載の化合物について、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 に示される各塩基配列を有する 12 個の PLsis マーカー遺伝子の発現変動を調べると、平均変動率（各遺伝子の重みはすべて同じとする）は図 6 に示される通りであり、17 種の  
15 PLsis 誘発化合物すべてを陽性と判定し、13 種の PLsis 非誘発化合物中 12 種を陰性と判定することができる（従って、約 97% の確率で正しく判定することができる）平均変動率 1.5 を基準値として決定することができる。

上記のようにして決定される基準値は、さらに別の既知 PLsis 誘発および非誘発化合物を用いて、同様に PLsis マーカー遺伝子の発現の平均  
20 変動率と現実の PLsis 誘発ポテンシャルの有無とを比較することにより、その妥当性を検討することがさらに好ましい。新たに検討した化合物についての判定結果を総合して、より高い確率で PLsis 誘発ポテンシャルの有無を正確に判定することができる平均変動率値が得られれば、基準  
25 値を補正すればよい。さらに、PLsis 誘発ポテンシャルの有無が未知の化合物群について、本法による判定と顕微鏡学的観察とを行って既知化

合物に関するデータを蓄積することにより、極めて精度の高い予測が可能となる。

本発明の PLsis 予測方法において指標として好ましく用いられる平均変動率の概念は、網羅的遺伝子発現解析を用いた化合物の他の毒性予測方法にも適用することができる。例えば、肝毒性（例：肝炎、肝壊死、脂肪肝等の誘発性）の予測方法として、肝細胞を数種～数十種の既知肝毒性化合物（例：アセトアミノフェン、アミトリプチリン、ANIT、四塩化炭素、酢酸シプロテロン、エストラジオール、インドメタシン等）に曝露した後、RNAを抽出し、常法によりcDNA、次いで標識cRNAを合成した後、これを断片化し、市販の哺乳動物ゲノムのDNAマイクロアレイ（例：GeneChip（登録商標）Affymetrix社製など）を用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、例えば、調べた化合物の半数以上で発現が共通変動した遺伝子群を肝毒性マーカー遺伝子として同定し、これらのマーカー遺伝子のいくつかを選択して、肝細胞を試験化合物に曝露した際のマーカー遺伝子の発現の平均変動率を上記と同様にして調べる

ことにより、化合物の肝毒性を精度よく予測することができるスクリーニング系を構築することができる。

本明細書において、塩基やアミノ酸などを略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature による略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものであり、その例を下記する。またアミノ酸に関し光学異性体があり得る場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

DNA : デオキシリボ核酸  
cDNA : 相補的デオキシリボ核酸

A : アデニン

T : チミン

	G	: グアニン
	C	: シトシン
	R N A	: リボ核酸
	m R N A	: メッセンジャーリボ核酸
5	d A T P	: デオキシアデノシン三リン酸
	d T T P	: デオキシチミジン三リン酸
	d G T P	: デオキシグアノシン三リン酸
	d C T P	: デオキシシチジン三リン酸
	A T P	: アデノシン三リン酸
10	E D T A	: エチレンジアミン四酢酸
	S D S	: ドデシル硫酸ナトリウム
	G l y	: グリシン
	A l a	: アラニン
	V a l	: バリン
15	L e u	: ロイシン
	I l e	: イソロイシン
	S e r	: セリン
	T h r	: スレオニン
	C y s	: システイン
20	M e t	: メチオニン
	G l u	: グルタミン酸
	A s p	: アスパラギン酸
	L y s	: リジン
	A r g	: アルギニン
25	H i s	: ヒスチジン
	P h e	: フェニルアラニン

T y r	: チロシン
T r p	: トリプトファン
P r o	: プロリン
A s n	: アスパラギン
5 G l n	: グルタミン
p G l u	: ピログルタミン酸
S e c	: セレノシステイン (selenocysteine)

### 実施例

- 10 以下に実施例を挙げて本発明をさらに具体的に説明するが、これらは単なる例示であって本発明の範囲を何ら限定するものではない。

#### [実施例 1]

参考例 化合物の PLsis 誘発ポテンシャルの電子顕微鏡学的検査

- 以下の 30 種の市販薬を試験化合物として、PLsis 誘発ポテンシャル  
15 の程度を、電子顕微鏡観察による細胞内ミエリン様構造物あるいはその早期像である電子密度の高い構造物の出現を指標として調べた。アミオダロン (amiodarone) およびクロザピン (clozapine) は ICN Biomedicals から、イミプラミン (imipramine)、クラリスロマイシン (clarithromycin)、ジソピラミド (disopyramide)、エリスロマイシン (erythromycin)、ハ  
20 ロペリドール (haloperidol)、ケトコナゾール (ketoconazole)、キニジン (quinidine)、セルトラリン (sertraline) およびスルファメトキサゾール (sulfamethoxazole) は和光純薬工業 (株) から、アミトリプチリン (amitriptyline)、AY-9944、クロルシクリジン (chlorcyclizine)、クロルプロマジン (chlorpromazine)、クロミプラミン (clomipramine)、  
25 フルオキセチン (fluoxetine)、ペルヘキシリン (perhexiline)、タモキシフェン (tamoxifen)、チオリダジン (thioridazine)、ジメリジン

(dimelidine)、アセトアミノフェン (acetaminophen)、フレカイニド (flecainide)、オフロキサシン (ofloxacin) およびソタロール (sotalol) は Sigma から、レボフロキサシン (levofloxacin) は Apin Chemicals から、ロラタジン (loratadine) およびスマトリプタン (sumatriptan) は KEMPROTEC から、ペンタミジン (pentamidine) は Tronto Research Chemicals から、プロカイナミド (procainamide) は Aldrich Chemical からそれぞれ購入した。

試験化合物は終濃度 (別途、細胞を 72 時間化合物に曝露して細胞が生存していた最高濃度を採用した) が  $8.3\text{--}25\text{ }\mu\text{mol/L}$  になるようにジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した。試験化合物の構造式、分子量、薬効、添加濃度を図 1～5 に示す。

HepG2 細胞 (ATCC より購入) への試験化合物の曝露は常法に従って実施した。HepG2 細胞は細胞増殖期の細胞を用いた。付着している HepG2 細胞を 0.05 w/v% EDTA を含むダルベッコのリン酸緩衝生理食塩水 (カルシウムおよびマグネシウム塩不含; PBS(-)) (大日本製薬) で 2 回洗浄後、0.25 vol% トリプシン-1 mmol/L EDTA (Gibco BRL) を PBS(-) で 2 倍に希釈した細胞解離液を用いて細胞を剥離させ、遠心して上清を除去し、培養液 [50 U/mL ペニシリン (Gibco BRL) -50 mmol/L ストレプトマイシン (Gibco BRL) および 5 vol% FBS (Bio whittaker) を添加したダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) (Gibco BRL)] を加えて  $2 \times 10^5$  cells/250  $\mu\text{L}$  の濃度に調整した。DMSO のみ、もしくは上記試験化合物の DMSO 溶液を溶解した培養液を 250  $\mu\text{L}$  ずつウェルに分注し、上記の細胞懸濁液 250  $\mu\text{L}$  を添加した後、CO<sub>2</sub> インキュベーター (7100; Napco) 中、5% 炭酸ガス-95% 空気の雰囲気下、37°C で培養した。

72 時間培養後、培養液を除去し、1 w/v% グルタルアルデヒド溶液を加えて固定した。常法に従い 2 w/v% オスミウム酸で 2 時間後固定し、

アルコール系列で脱水後、樹脂 (Quetol 812) に包埋した。超薄切片を作製し、電子染色後、電子顕微鏡 (H-300 ; 日立) で観察し、各サンプルあたり 3 枚以上の写真 (倍率は 5000 倍) を撮影した。後固定以降の作業はアプライドメディカルリサーチにて実施した。電子顕微鏡写真を肉眼的に観察し、ミエリン様構造物の出現程度を重度、中等度、軽度、変化なしの 4 段階に盲検下で分類した (n=4)。尚、分類基準については、「重度」は大型のミエリン様構造物が複数見られるもの、「中等度」は中等度のミエリン様構造物が少数見られるもの、「軽度」は軽微なミエリン様構造物が少数見られるもの、「変化なし」はミエリン様構造物が見られないものとした。

その結果、12 の既知 PLsis 誘発化合物 (図 1 および 2 に示される化合物) のすべて、および 18 の評価系検討用化合物中 5 化合物 (図 3 に示される化合物) において典型的な PLsis 像であるミエリン様構造物がリソソームに認められた。一方、評価系検討用化合物中 13 化合物 (図 4 および 5 に示される化合物) においては、リソソームに変化は認められなかった。ミエリン様構造物の出現程度をランク付けした結果を表 1 に示す (化合物の添加濃度は、培養 72 時間後に細胞が生存していた最高濃度を示す)。

(表 1)

ミエリン様構造物 出現程度	化合物	添加濃度 ( $\mu\text{mol/L}$ )
重度	アミトリプチリン	25
	クロルシクリジン	25
	フルオキセチン	8.3
中等度	アミオダロン	8.3
	AY-9944	8.3
	クロルプロマジン	8.3
	イミプラミン	25
	タモキシフェン	8.3
	ベルヘキシリン	8.3
	クロザピン	25
	セルトラリン	8.3
軽度	クロミプラミン	8.3
	チオリダジン	8.3
	ジメリジン	25
	ケトコナゾール	8.3
	ロラタジン	8.3
	ペンタミジン	8.3
変化なし	溶媒	—
	アセトアミノフェン	25
	クラリスロマイシン	25
	ジソピラミド	25
	エリスロマイシン	25
	フレカイニド	25
	ハロペリドール	8.3
	レボフロキサシン	25
	オフロキサシン	25
	プロカイナミド	25
	キニジン	25
	ソタロール	25
	スルファメトキサゾール	25
	スマトリブタン	25

## [実施例 2]

既知 PLsis 誘発および非誘発化合物曝露による種々の遺伝子の発現変動

5 実施例 1 (参考例) と同様にして、HepG2 細胞を PLsis 誘発化合物 17 種および PLsis 非誘発化合物 14 種にそれぞれ 24 時間曝露した後、培養液を除去し、 $-80^{\circ}\text{C}$  で凍結保存した。RNeasy Mini Kit (QIAGEN) を用いて該細胞から全 RNA を精製し、TaqMan Reverse Transcription Reagents (PE Applied Biosystems) を用いて  $100\ \mu\text{L}$  の系で cDNA を合成した。

10 配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 に示される塩基配列を基に、PrimerExpress (PE Applied



Biosystems)を用いてプライマーおよび FAM 標識プローブを設計、合成(シグマジェノシスジャパン社に委託)した。各プライマーおよびプローブの配列は配列番号 25 ~ 60 にそれぞれ示した。グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) のプライマーおよび VIC 標識プローブは TaqMan GAPDH Control Reagents (PE Applied Biosystems) に添付のものをを用いた。

5  $5 \mu\text{L}$  の cDNA を含む  $100 \mu\text{L}$  の反応液 ( $1\times$  TaqMan Universal PCR Master Mix (PE Applied Biosystems)、 $200 \text{ nM}$  フォーワードプライマー、 $200 \text{ nM}$  リバースプライマーおよび  $200 \text{ nM}$  TaqMan プローブ) で、40 サイクル (1 サイクル= $95^{\circ}\text{C}$ , 15 秒 ;  $60^{\circ}\text{C}$ , 1 分) の PCR を行った。PCR および蛍光検出は、ABI PRISM Sequence Detector 7000 (PE Applied Biosystems) を用いて実施した。内部標準として GAPDH を用い、測定値の補正を行った。対照群との有意差判定には t 検定を用いた ( $n=3$ )。

15 各試験化合物について、対照群に対する 12 遺伝子の各発現変動率を求めた。その結果を表 2 に示す。調べた 12 遺伝子のすべてについて、PLsis 誘発化合物の曝露によりその発現が変動し、PLsis 非誘発化合物の曝露によってはその発現が実質的に変動しない傾向が認められた。従って、これら 12 の遺伝子は薬物の PLsis 誘発ポテンシャル予測に有用なマーカー遺伝子であることが明らかとなった。

(表 2)

電子顕微鏡 学的検査		ミエリン様構造物の出現程度 <sup>a</sup>															
		+++							++							+	
遺伝子 <sup>b</sup>		発現変動率 <sup>c</sup>															
		7E10/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	
Kiaa1001	2.11 *	2.47 **	1.93 **	1.56	1.68 *	1.90 *	2.11 **	1.98 **	1.85 **	3.34 *	2.38 *	3.83	5.79	2.24 *	2.24 **	1.42	1.82 **
asah1	3.10 *	3.23 *	6.55 *	1.69	4.71 *	1.29	4.52	3.12	4.50 **	2.75	3.08	0.82	1.38	1.47	1.53	1.23	0.93
mgc4171	2.22 **	2.43 **	1.34	1.32	1.63	1.74 *	1.81 *	1.93 *	1.60	1.88	1.94	1.41	1.32	1.12	1.53 *	1.57	0.73
lss	1.79 **	2.98 **	3.51	1.82	4.78 *	1.99 **	2.69 **	3.10 **	3.01 **	2.69 **	3.91 **	1.52 *	2.03	1.05	4.33 **	1.54	0.52
mb2	1.64	2.48 *	2.70	1.35	2.71 **	1.20	3.41 *	2.09 *	2.58 **	1.97	1.79	0.98	0.77	1.33	2.36 **	1.63	1.83
fabp1	2.39 **	2.62 **	2.80 *	2.01 **	3.16 **	2.56 **	2.45 **	2.49 **	1.90 **	3.89 **	4.14 *	2.36 **	5.07 *	1.42	5.30 **	1.58	0.15 *
hpn	2.20 *	2.97 *	2.39 **	2.15 **	2.68 **	1.70 **	2.32 **	2.22 *	2.19 *	2.35 **	3.07 **	2.39 **	2.85	1.74 **	2.71 **	1.52 *	2.50 *
serpina3	3.01 **	2.23 **	1.73 **	1.17	1.97 *	1.94 **	2.12 **	2.50 **	2.12 **	1.96 *	2.89 *	2.03 **	2.46 **	1.95	2.37 *	1.83 *	2.12 *
depp	5.08 **	3.24 *	3.08 *	1.12	3.32 **	2.95 **	3.36 **	2.55 **	2.02	5.15 **	4.44 *	2.08	2.02	2.67 **	2.29 **	0.79	2.88
g22362	1.80 **	2.96 **	2.15 **	1.07	1.45	1.70 *	1.80 *	3.42 **	1.53	1.92 **	3.49 *	1.48	1.57	1.71	1.95	1.12	2.49 **
slc2a3	0.22 *	0.20 *	0.09 *	0.35 *	0.22 *	0.43	0.15 *	0.22 *	0.24 *	0.24 *	0.14 *	0.63	0.38	0.70	0.48 *	0.46 *	0.50 *
tagln	0.23 **	0.30 **	0.20 *	0.58 *	0.21 *	0.65 *	0.15 *	0.26 **	0.27 *	0.24 **	0.37 **	0.78	0.46 **	0.59 *	0.71	0.44 **	0.68

電子顕微鏡 学的検査		ミエリン様構造物の出現程度															
遺伝子		発現変動率															
		7E10/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	9A/24	
Kiaa1001	1.13	1.48	0.94	0.78	2.10 *	1.32	0.70	0.86	1.78	1.27	0.84	0.84	1.34				
asah1	1.18	1.55	1.85	0.90	2.42	0.71	1.10	1.17	0.68	1.43	1.39	1.26	1.35				
mgc4171	0.75	1.18	1.21	0.86	1.57	1.24	0.79	0.77	1.08	1.20	0.72	0.78	0.98				
lss	0.91	0.65	1.14	0.87	1.22	1.52	0.75	0.78	0.90	1.30	0.68	0.82	1.23 *				
mb2	0.69	0.78	0.63	0.90	1.02	1.49 *	0.79	0.81	0.74	1.03	0.63	0.82	0.63				
fabp1	1.11	0.91	1.02	0.73	1.50	1.50 *	0.88	0.75	1.00	1.38	0.98	0.85	1.01				
hpn	1.10	0.96	1.12	0.87	1.28	1.43	0.83	0.72	1.08	1.21	0.79	0.89	1.16				
serpina3	0.99	1.39	0.99	0.85	1.60	1.31	0.92	0.82	0.86	1.22	0.78	0.98	0.95				
depp	0.94	0.93	0.90	0.71	1.73	1.38	0.83 *	0.79 *	0.98	1.06	0.80	0.70 *	1.05				
g22362	1.02	1.00	0.98	0.92	1.65	0.93	0.83	0.68 *	0.73 *	1.26	0.85	0.87	1.26				
slc2a3	1.50 **	0.86	1.03	0.73	0.46	0.44 *	1.07	0.94	0.88	0.37 **	1.53	1.11	0.99				
tagln	0.93	0.86	0.98	0.85	0.86	0.50 *	0.90	0.74 **	0.95	0.83 *	0.80	0.89	1.08				

<sup>a</sup> 表2例1(参考例)参照<sup>b</sup> PLISマーカー遺伝子の略称<sup>c</sup> 対照群の遺伝子発現量(平均値)を1.0としたときの化合物添加群の遺伝子発現量の相対値(平均値)

\*, \*\* 対照群との有意差(検定) \* p&lt;0.05, \*\* p&lt;0.01

次に、各試験化合物について、12 遺伝子の発現の平均変動率（各遺伝子はすべて同じ重みとする）を算出した。この平均変動率の値とミエリン様構造物の出現程度との相関を調べた結果を図 6 に示す。平均変動率の高いものほどミエリン用構造物の出現程度も大きい傾向があり、両者の間に良好な相関が認められた。また、PLsis 誘発ポテンシャルの有無の判定基準値を平均変動率 1.5 とした場合、17 の PLsis 誘発化合物すべてで平均変動率 1.5 以上であるのに対し、13 の PLsis 非誘発化合物中 12 化合物において平均変動率 1.5 未満であり、計 30 化合物中 29 化合物（約 97%）の確率で PLsis 誘発ポテンシャルの有無を正しく判定することができた。

### 〔実施例 3〕

#### 評価系の信頼性の確認

実施例 1（参考例）と同様にして、HepG2 細胞を PLsis 誘発ポテンシャルの有無が未知の 26 種の化合物にそれぞれ 24 時間曝露した後、実施例 2 と同様にして、12 の PLsis マーカー遺伝子の発現変動率を求め、平均変動率（各遺伝子はすべて同じ重みとする）を算出した。同じ実験を 2 回実施した。1 回目の実験での平均変動率を x 座標、2 回目の実験での平均変動率を y 座標として各試験化合物をプロットした結果を図 7 に示す。2 回の実験結果を比較したところ、良好な再現性（ $R=0.907$ ）を示した。また、別途参考例の方法に従って、HepG2 細胞をこれら 26 化合物に 72 時間曝露した際のミエリン様構造物の出現の有無を検出し、平均変動率との関係を調べた結果、PLsis 陰性化合物はグラフ中の平均変動率 1.5 未満の領域に、PLsis 陽性化合物は平均変動率 1.5 以上の領域にそれぞれ分布し、極めて良好な予測的中率を示すことが確認された。

#### 産業上の利用可能性

本発明の PLsis の予測方法は、哺乳動物細胞を化合物に曝露した際の PLsis マーカー遺伝子の発現変動を検出することを特徴とすることにより、従来のインビボ毒性試験や酵素活性や細胞内へのリン脂質等の蓄積を指標とする評価方法に比べて、迅速且つ簡便に多数の化合物を検査することができるという有利な効果を奏する。

また、本発明の毒性の予測方法は、毒性の発現と相関して発現が共通変動する遺伝子群の平均発現変動率を指標とすることにより、従来の評価方法に比べてより正確に毒性の有無を予測することができるという優れた効果を奏する。

本発明の化合物の PLsis 誘発ポテンシャルの予測方法は、偽陽性および偽陰性の確率が低く、信頼性に優れた PLsis 誘発ポテンシャルのインビトロ評価系であるだけでなく、従来よりも迅速且つ簡便に多検体を処理することができるので、特に、創薬初期段階での医薬候補化合物の毒性評価に有用である。

#### 配列表フリーテキスト

配列番号 25 : kiaa1001 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 26 : kiaa1001 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 27 : kiaa1001 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 28 : asah1 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 29 : asah1 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 30 : asah1 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 31 : mgc4171 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

5 配列番号 32 : mgc4171 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 33 : mgc4171 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

10 配列番号 34 : lss 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 35 : lss 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 36 : lss 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

15 配列番号 37 : nr0b2 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 38 : nr0b2 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

20 配列番号 39 : nr0b2 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 40 : fabp1 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 41 : fabp1 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

25 配列番号 42 : fabp1 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 4 3 : hpn 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 4 4 : hpn 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

5 配列番号 4 5 : hpn 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 4 6 : serpina3 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

10 配列番号 4 7 : serpina3 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 4 8 : serpina3 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 4 9 : depp 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

15 配列番号 5 0 : depp 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 5 1 : depp 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

20 配列番号 5 2 : flj22362 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 5 3 : flj22362 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 5 4 : flj22362 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

25 配列番号 5 5 : slc2a3 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 56 : slc2a3 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 57 : slc2a3 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

5 配列番号 58 : tagln 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

配列番号 59 : tagln 遺伝子転写産物を増幅するためのプライマーとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

10 配列番号 60 : tagln 遺伝子転写産物の増幅を検出するための TaqMan プローブとして機能すべく設計されたオリゴヌクレオチド。

本出願は、日本で出願された特願 2003-397551（出願日：2003年11月27日）を基礎としており、その内容は本明細書に全て包含されるものである。

## 請求の範囲

1. 配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有してなる、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャル予測用試薬。
2. リン脂質症の発現と相関して発現が変動する遺伝子の転写産物とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該転写産物に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有する 1 もしくは 2 以上の試薬を含んでなる、化合物のリン脂質症誘発ポテンシャル予測用キットであって、2 以上の試薬を含む場合、各試薬は互いに異なる遺伝子の発現を検出し得るものであるキット。
3. 少なくとも 1 つの試薬は、配列番号 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21 および 23 のいずれかに示される塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸、及び／又は該塩基配列に相補的な塩基配列を有する核酸とハイストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得る核酸を含有する、請求の範囲 2 記載のキット。
4. 哺乳動物細胞を試験化合物に曝露した際の、各試薬中に含有される核酸がハイブリダイズし得る核酸の該細胞内での発現の平均変動率を指標とした場合に、リン脂質症誘発ポテンシャルの予測的中率が約 70 % 以上である、請求の範囲 2 記載のキット。
5. 化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの予測方法であって、化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは化合物を投与された哺乳動



物より採取した試料における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する1以上の遺伝子の発現変動を検出することを含む方法。

6. 少なくとも1つの遺伝子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである、請求の  
5 範囲5記載の方法。

7. 化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの有無を判定するための基準を決定する方法であって、

(1) 2以上の既知リン脂質症誘発化合物および2以上の既知リン脂質症非誘発化合物の各々に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは該化合物の各々を投与された哺乳動物より採取した試料における、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する1以上の遺伝子の発現変動を検出し、  
10

(2) 該遺伝子の発現の平均変動率とリン脂質症誘発ポテンシャルとの関係から、上記化合物のリン脂質症誘発ポテンシャルの有無を約70%以上正しく判定することができる平均変動率の値を基準値とすることを含む方法。  
15

8. 少なくとも1つの遺伝子は、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21および23のいずれかに示される塩基配列と同一もしくは実質的に同一の塩基配列を有するものである、請求の  
20 範囲7記載の方法。

9. 他の既知リン脂質症誘発化合物および既知リン脂質症非誘発化合物を用いて基準値の妥当性を検証することをさらに含む、請求の範囲7記載の方法。

10. 遺伝子の発現の平均変動率を、請求の範囲7または9記載の方法により得られる基準値と比較することを含む、請求の範囲5記載の方法。  
25

11. 化合物の毒性の予測方法であって、

(1) 化合物に曝露された哺乳動物細胞含有試料もしくは化合物を投与された哺乳動物より採取した試料における、毒性の発現と相関して発現が変動する1以上の遺伝子の発現変動を検出し、

(2) 該遺伝子の発現の平均変動率を指標として該化合物の毒性の有無を判定することを含む方法。

図 1

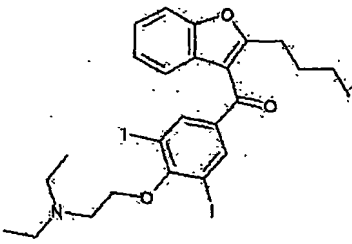
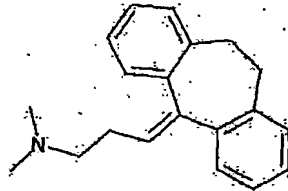
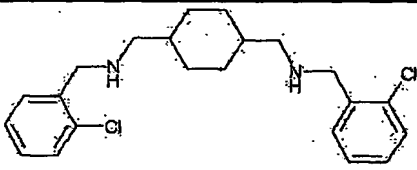
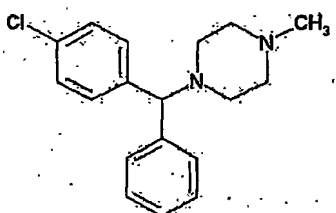
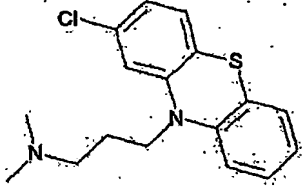
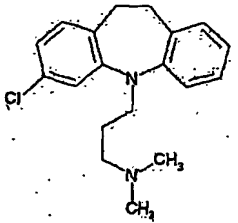
化合物名	構造式	分子 量	薬効	添加濃度 ( $\mu$ mol/L)
アミオダロン		681.8	抗不整脈薬	8.3
アミトリプチリン		313.9	抗うつ薬	25
AY-9944		464.3	高脂血症薬	8.3
クロルシクリジン		337.3	抗ヒスタミン薬	25
クロルプロマジン		355.3	抗不安薬	8.3
クロミプラミン		351.3	抗うつ薬	8.3

図 2

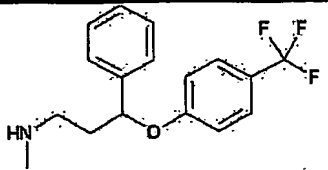
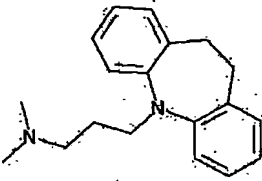
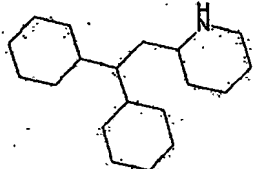
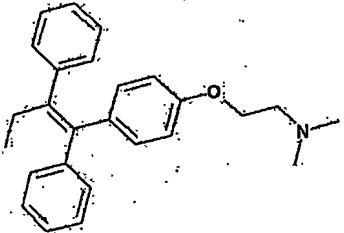
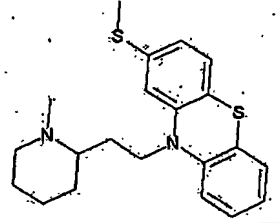
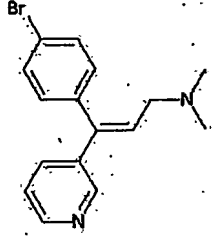
化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度 ( $\mu$ mol/L)
フルオキセチン		345.8	抗うつ薬	8.3
イミプラミン		316.9	抗うつ薬	25
ペルヘキシリン		393.6	抗狭心症薬	8.3
タモキシフェン		563.7	抗エストロゲン薬	8.3
チオリダジン		407	抗不安薬	8.3
ジメリジン		390.2	抗うつ薬	25

図 3

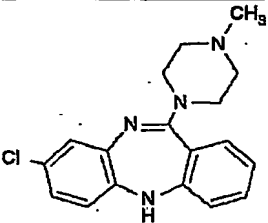
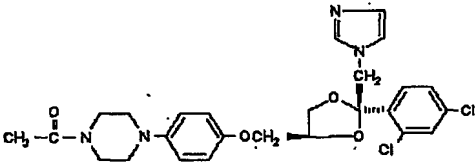
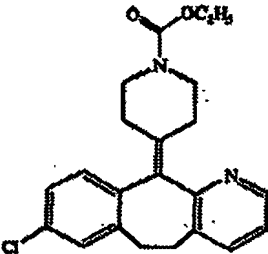
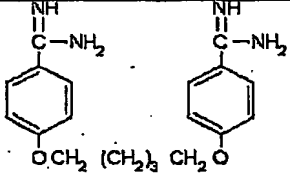
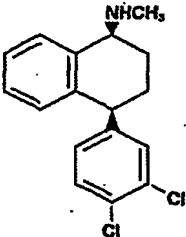
化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度 ( $\mu$ mol/L)
クロザピン		326.8	抗精神病薬	25
ケトコナ ゾール		531.4	抗真菌剤	8.3
ロラタジン		382.89	抗ヒスタミン 薬	8.3
ペンタミジ ン		340.4	抗感染症薬	8.3
セルトラリ ン		342.7	抗うつ薬	8.3

図 4

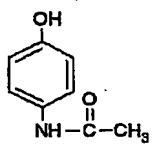
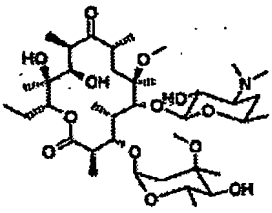
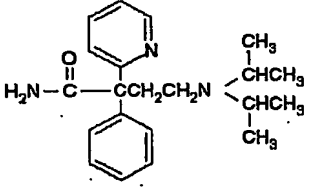
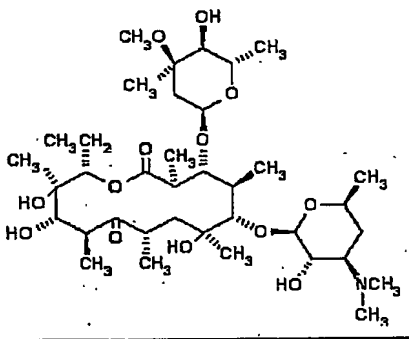
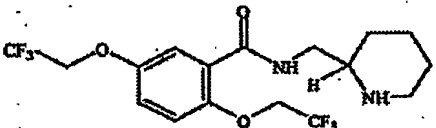
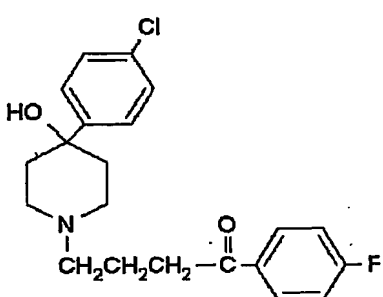
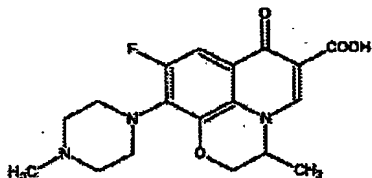
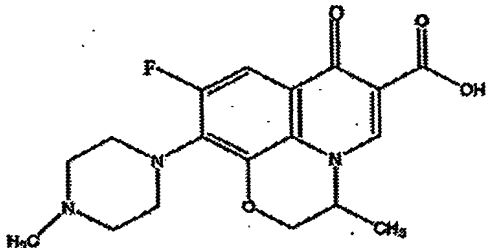
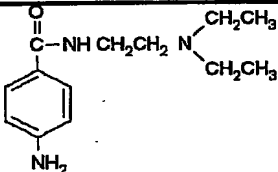
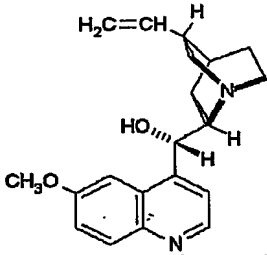
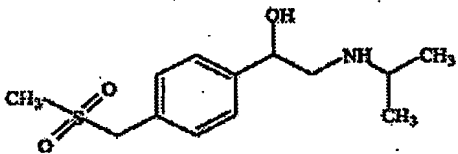
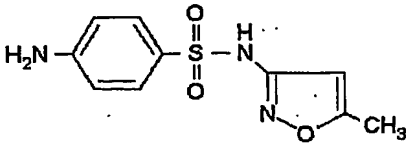
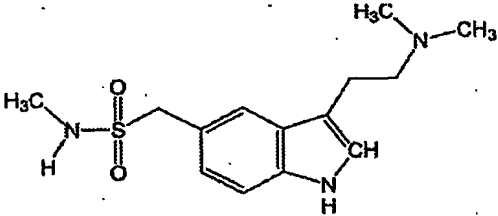
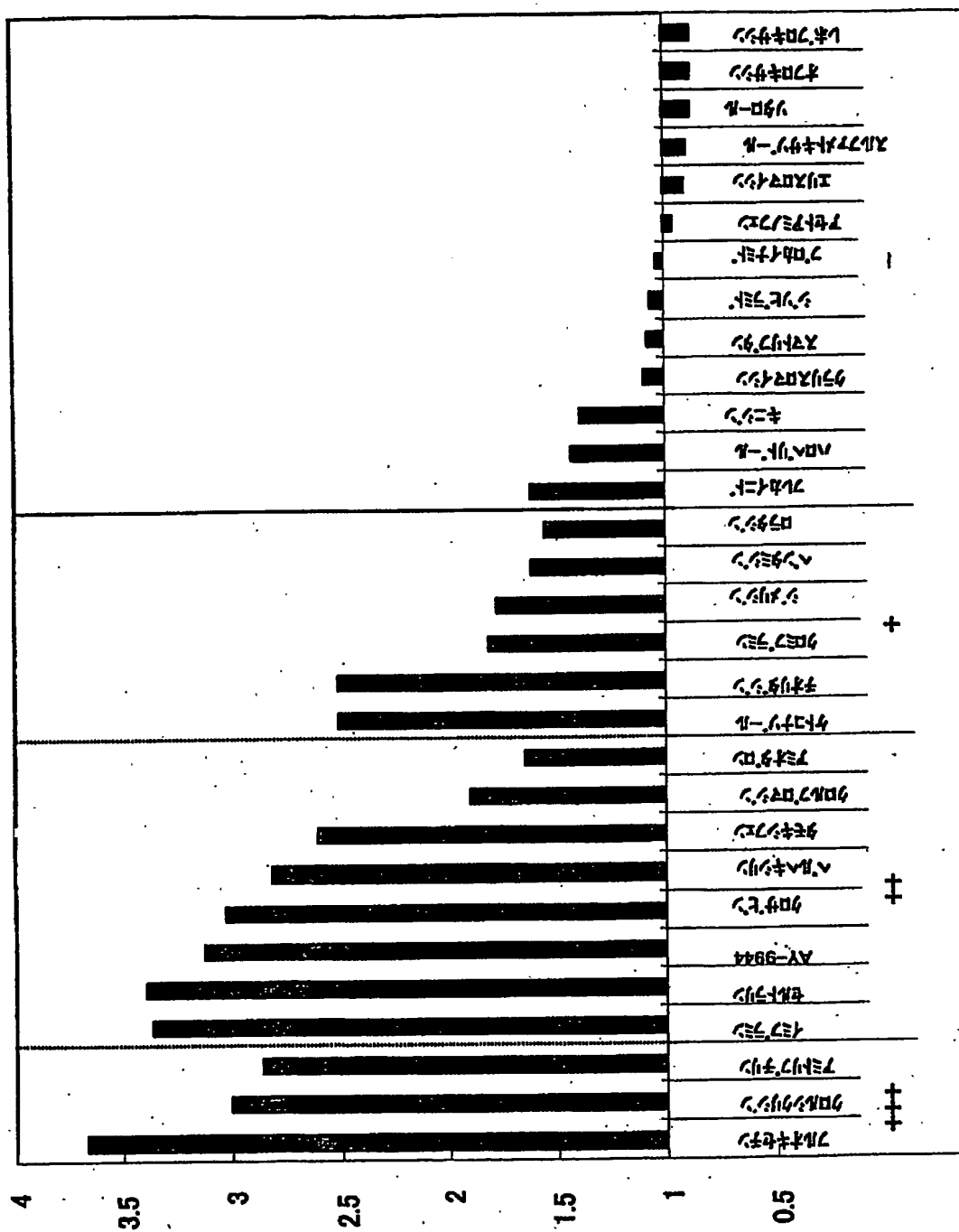
化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度 ( $\mu$ mol/L)
アセトアミノフェン		515.9	解熱鎮痛剤	25
クラリスロマイシン		748	抗生物質	25
ジソピラミド		339.48	抗不整脈薬	25
エリスロマイシン		733.94	抗生物質	25
フレカイニド		474.4	抗不整脈薬	25
ハロペリドール		375.86	抗精神病薬	8.8

図 5

化合物名	構造式	分子量	薬効	添加濃度 ( $\mu$ mol/L)
レボフロキサシン		370.4	抗生物質	25
オフロキサシン		361.4	抗生物質	25
プロカイナミド		271.8	抗不整脈薬	25
キニジン		324.42	抗不整脈薬	25
ソタロール		308.8	抗不整脈薬	25
スルファトキサゾール		253.3	抗感染症薬	25
スマトリプタン		413.5	偏頭痛薬	25

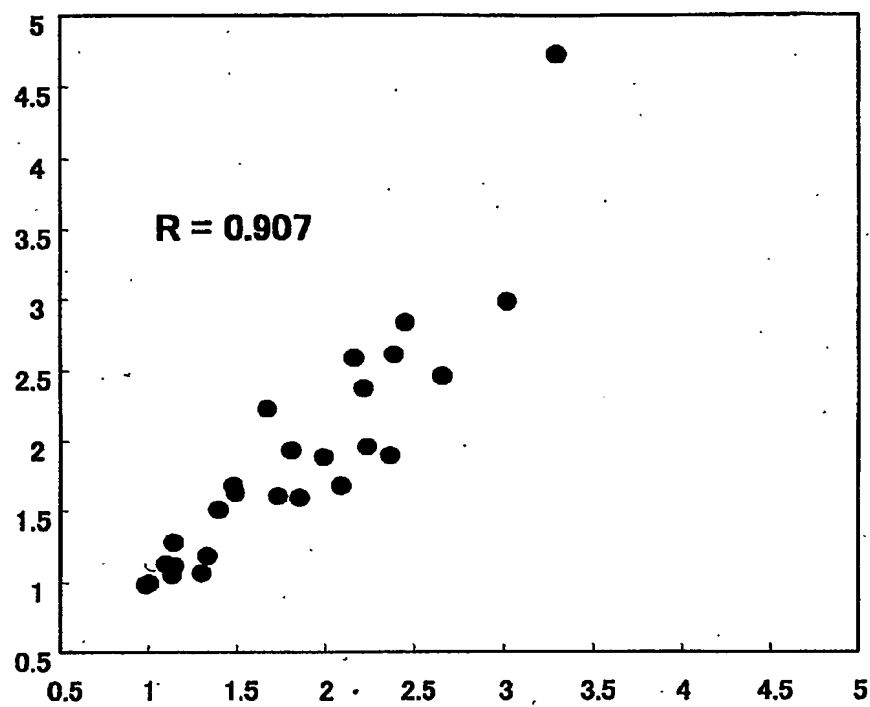
6. 





7/7

図 7



1/158

SEQUENCE LISTING

<110> Takeda Pharmaceutical Company Limited

<120> Method for Predicting Drug Toxicity

<130> 09707

<150> JP 2003-397551

<151> 2003-11-27

<160> 60

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 4304

<212> DNA

<213> Homo sapiens

2/158

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; - CDS

&lt;222&gt; (459).. (2033)

&lt;400&gt; 1

gcgagaactc atcctgtagt caccagatgg agtcccaaac agccaagcag atgtaaggcc 60

tgtgctgtgg ctctgaggcc ctgaatacag aagggtcact ttcttagtgg ccaaagagca 120

gttggtgaca ttgatgtcta attattgaac acgaccagtc attttactga gctgcggtga 180

ggaaacactg accatagaag atcaagccaa atgaggggatt gcaaatttcc tgattctttt 240

gaattaggat tccagatggg ggcctcattt ctacagcccc caacattcct atagccgtta 300

tcactgcat caccactgcc accagcatct tcttgagat tccaccctg ctcccagag 360

acttcctgct ttgaaagtga gcagaaagga agctctcaga aaaatctcta gtggtggctg 420

cogtcgtcc agacaatcgg aatcctgcct tcaccacc atg ggc tgg ctt ttt cta 476

3/158

Met Gly Trp Leu Phe Leu

1

5

aag gtt ttg ttg gcg gga gtg agt ttc tca gga ttt ctt tat cct ctt 524

Lys Val Leu Leu Ala Gly Val Ser Phe Ser Gly Phe Leu Tyr Pro Leu

10

15

20

gtg gat ttt tgc atc agt ggg aaa aca aga gga cag aag cca aac ttt 572

Val Asp Phe Cys Ile Ser Gly Lys Thr Arg Gly Gln Lys Pro Asn Phe

25

30

35

gtg att att ttg gcc gat gac atg ggg tgg ggt gac ctg gga gca aac 620

Val Ile Ile Leu Ala Asp Asp Met Gly Trp Gly Asp Leu Gly Ala Asn

40

45

50

tgg gca gaa aca aag gac act gcc aac ctt gat aag atg gct tcg gag 668

Trp Ala Glu Thr Lys Asp Thr Ala Asn Leu Asp Lys Met Ala Ser Glu

55

60

65

70

gga atg agg ttt gtg gat ttc cat gca gct gcc tcc acc tgc tca ccc 716

Gly Met Arg Phe Val Asp Phe His Ala Ala Ala Ser Thr Cys Ser Pro

4/158

75

80

85

tcc cgg gct tcc ttg ctc acc ggc cgg ctt ggc ctt cgc aat gga gtc 764

Ser Arg Ala Ser Leu Leu Thr Gly Arg Leu Gly Leu Arg Asn Gly Val

90

95

100

aca cgc aac ttt gca gtc act tct gtg gga ggc ctt ccg ctc aac gag 812

Thr Arg Asn Phe Ala Val Thr Ser Val Gly Gly Leu Pro Leu Asn Glu

105

110

115

acc acc ttg gca gag gtg ctg cag cag gcg ggt tac gtc act ggg ata 860

Thr Thr Leu Ala Glu Val Leu Gln Gln Ala Gly Tyr Val Thr Gly Ile

120

125

130

ata ggc aaa tgg cat ctt gga cac cac ggc tct tat cac ccc aac ttc 908

Ile Gly Lys Trp His Leu Gly His His Gly Ser Tyr His Pro Asn Phe

135

140

145

150

cgt ggt ttt gat tac tac ttt gga atc cca tat agc cat gat atg ggc 956

Arg Gly Phe Asp Tyr Tyr Phe Gly Ile Pro Tyr Ser His Asp Met Gly

155

160

165

5/158

tgt act gat act cca ggc tac aac cac cct cct tgt cca gcg tgt cca 1004

Cys Thr Asp Thr Pro Gly Tyr Asn His Pro Pro Cys Pro Ala Cys Pro

170

175

180

cag ggt gat gga cca tca agg aac ctt caa aga gac tgt tac act gac 1052

Gln Gly Asp Gly Pro Ser Arg Asn Leu Gln Arg Asp Cys Tyr Thr Asp

185

190

195

gtg gcc ctc cct ott tat gaa aac ctc aac att gtg gag cag ccg gtg 1100

Val Ala Leu Pro Leu Tyr Glu Asn Leu Asn Ile Val Glu Gln Pro Val

200

205

210

aac ttg agc agc ctt gcc cag aag tat gct gag aaa gca acc cag ttc 1148

Asn Leu Ser Ser Leu Ala Gln Lys Tyr Ala Glu Lys Ala Thr Gln Phe

215

220

225

230

atc cag cgt gca agc acc agc ggg agg ccc ttc ctg ctc tat gtg gct 1196

Ile Gln Arg Ala Ser Thr Ser Gly Arg Pro Phe Leu Leu Tyr Val Ala

235

240

245

6/158

ctg gcc cac atg cac gtg ccc tta cct gtg act caa cta cca gca gcg 1244

Leu Ala His Met His Val Pro Leu Pro Val Thr Gln Leu Pro Ala Ala

250

255

260

cca cgg ggc aga agc ctg tat ggt gca ggg ctc tgg gag atg gac agt 1292

Pro Arg Gly Arg Ser Leu Tyr Gly Ala Gly Leu Trp Glu Met Asp Ser

265

270

275

ctg gtg ggc cag atc aag gac aaa gtt gac cac aca gtg aag gaa aac 1340

Leu Val Gly Gln Ile Lys Asp Lys Val Asp His Thr Val Lys Glu Asn

280

285

290

aca ttc ctc tgg ttt aca gga gac aat ggc ccg tgg gct cag aag tgt 1388

Thr Phe Leu Trp Phe Thr Gly Asp Asn Gly Pro Trp Ala Gln Lys Cys

295

300

305

310

gag cta ggc ggc agt gtg ggt ccc ttc act gga ttt tgg caa act cgt 1436

Glu Leu Ala Gly Ser Val Gly Pro Phe Thr Gly Phe Trp Gln Thr Arg

315

320

325

caa ggg gga agt cca gcc aag cag acg acc tgg gaa gga ggg cac cgg 1484

7/158

Gln Gly Gly Ser Pro Ala Lys Gln Thr Thr Trp Glu Gly Gly His Arg

330

335

340

gtc cca gca ctg gct tac tgg cct ggc aga gtt cca gtt aat gtc acc 1532

Val Pro Ala Leu Ala Tyr Trp Pro Gly Arg Val Pro Val Asn Val Thr

345

350

355

agc act gcc ttg tta agc gtg ctg gac att ttt cca act gtg gta gcc 1580

Ser Thr Ala Leu Leu Ser Val Leu Asp Ile Phe Pro Thr Val Val Ala

360

365

370

ctg gcc cag gcc agc tta cct caa gga cgg cgc ttt gat ggt gtg gac 1628

Leu Ala Gln Ala Ser Leu Pro Gln Gly Arg Arg Phe Asp Gly Val Asp

375

380

385

390

gtc tcc gag gtg ctc ttt ggc cgg tca cag cct ggg cac agg gtg ctg 1676

Val Ser Glu Val Leu Phe Gly Arg Ser Gln Pro Gly His Arg Val Leu

395

400

405

ttc cac ccc aac agc ggg gca gct gga gag ttt gga gcc ctg cag act 1724

Phe His Pro Asn Ser Gly Ala Ala Gly Glu Phe Gly Ala Leu Gln Thr



8/158

410

415

420

gtc cgc ctg gag cgt tac aag gcc ttc tac att acc ggt gga gcc agg 1772

Val Arg Leu Glu Arg Tyr Lys Ala Phe Tyr Ile Thr Gly Gly Ala Arg

425

430

435

gcg tgt gat ggg agc acg ggg cct gag ctg cag cat aag ttt cct ctg 1820

Ala Cys Asp Gly Ser Thr Gly Pro Glu Leu Gln His Lys Phe Pro Leu

440

445

450

att ttc aac ctg gaa gac gat acc gca gaa gct gtg ccc cta gaa aga 1868

Ile Phe Asn Leu Glu Asp Asp Thr Ala Glu Ala Val Pro Leu Glu Arg

455

460

465

470

ggt ggt gcg gag tac cag gct gtg ctg ccc gag gtc aga aag gtt ctt 1916

Gly Gly Ala Glu Tyr Gln Ala Val Leu Pro Glu Val Arg Lys Val Leu

475

480

485

gca gac gtc ctc caa gac att gcc aac gac aac atc tcc agc cca gat 1964

Ala Asp Val Leu Gln Asp Ile Ala Asn Asp Asn Ile Ser Ser Pro Asp

490

495

500

9/158

tac act cag gac cct tca gta act ccc tgc tgt aat ccc tac caa att 2012

Tyr Thr Gln Asp Pro Ser Val Thr Pro Cys Cys Asn Pro Tyr Gln Ile

505

510

515

gcc tgc cgc tgt caa gcc gca taacagacca atttttattc cacgaggagg 2063

Ala Cys Arg Cys Gln Ala Ala

520

525

agtacctgga aattaggcaa gtttgcttcc aaatttcatt ttaccctct ttacaaacac 2123

acgctttagt ttagtcttgg agtttagttt tggagttagc cttgcatatc cttctgtat 2183

cctgtccctc ctccacgccg acccgagagc agctgagctg cgctggctct gggcaggag 2243

tgtgccttaa tgggaagcac acgggctttg gagtcaggca caggtgccag ctccagcttt 2303

tgaacttggg caattgttta acctaacctg caagttgatt ttgagggtta aataaaggca 2363

tacatgaaaa tgcctggcaa attacctgac acagagcaga cattcaatac attttagttt 2423

10/158

ccttgtttct ctggttccca gtttctctgg tcattttggt gtaaattccat tctaattagt 2483

atttagggca gagcttctct ctcttttctc ttttttccct tccacaaacc agtgactca 2543

ctggtctcca tctttaatat gcaaacaat cacctgggat ctgtgagaa tccggattct 2603

gtctcagtag ggctcgagta gatcctgaaa tctacattt ctatcaaaca atgccttgag 2663

gagcacagat ttagacaaa gtaggtcgt tttccagatc tcagagcaga cgagtccatg 2723

gataagtctg tggccaatc cccttctct ccttttaagg gtgaaatgac tgcatttaaa 2783

agaagttaaa gagttcctcc tgtccctat aaccacaagg aaacaaaaaa atatataaaa 2843

acctcaaaaa tgcattgcca tgattttatt attagtgtcc aaaatgggac tccaagtaa 2903

taaatgattt attccagcca cagccaaaaa agactttgcc tggctaaaag agtctctctc 2963

taagtatgta atatacaaga aatacaattc aaagagatgt tcctataagt acatttttta 3023

cacggcatat atttaaaaag gagggccctt ttaatatataa attccggtta tataccaata 3083

11/158

tggttaatta gcatttacac tatagtttga acgtatttta aatagcatga tgtgtataca 3143

atgtctcccg cgcccattgg caaccagggt cgtgggaagc ttggtgagga gttaaccagg 3203

tcctgtggtt taagcagtgg agcaccggg attcctgccc ccctttctgc tcacacaatt 3263

gcactccatt ctccgcctt ccttgttttc tccaaaacca cctgataggg gggatgtcct 3323

gatttctgag gtgtgcttct catcatgact gcttcgtttt gcccttctga tttccacggc 3383

acaagattat ctaccaaaat caaaacagaa tggccttact cttctcagga agaggctggt 3443

aggcaggtgc attatcaaca ggtctgtgcc catgcagagt gagcaggag aggctgggca 3503

ctgtggaatt tttctgtctg aactcgctca tggccacaga atggtcaccc agcttattta 3563

ggtgtagaca agtatgacac agttctagaa aatactgact ataaaaatgt ctctgtgtgt 3623

gtgtgtatgt atttatatgt atatgtatat atttttaaaa ggctcatctt acttgtaaac 3683

12/158

atggactgct caatcactat taaaaagtca gtttaggctg ggcgcggtgg ctcaagcctg 3743

tagtcccaga gctttgggag gctgagggtg gtggatcact gggtcaggag tttgagacca 3803

gcctggccaa catggtgaaa ccccatcgct actaaaaaat acaaaaatta gccgggcatg 3863

gtggcgctca cctgtaatcc cggctactcg ggaggctgag gcaggagaga atcgcttgaa 3923

ccggggaggt ggaggctgca gtgagccgag atcgaccac tgcactccag cctgggtgat 3983

ggagcaagac tccatctcaa aaaaaaaaaa gtcagtttag gctgggcgca gtggctcaca 4043

cctgtagtcc cagcacttta ggaggctgag gggggtgata acctgaggtc aggagtttga 4103

gaccagcctg gccaacatgg tgaaatcctg tctctgctaa aaatacaaaa tttagctggg 4163

catggtggcg tgccatgaaac cccagctact tgggaggctg aggcaactaga atcgcttgag 4223

cctgggaggt ggaggttgca gtgagtggag atcgcgccaa cacattctag cctgagggac 4283

agagtgagac tctatcatct c 4304

13/158

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 525

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 2

Met Gly Trp Leu Phe Leu Lys Val Leu Leu Ala Gly Val Ser Phe Ser

1

5

10

15

Gly Phe Leu Tyr Pro Leu Val Asp Phe Cys Ile Ser Gly Lys Thr Arg

20

25

30

Gly Gln Lys Pro Asn Phe Val Ile Ile Leu Ala Asp Asp Met Gly Trp

35

40

45

14/158

Gly Asp Leu Gly Ala Asn Trp Ala Glu Thr Lys Asp Thr Ala Asn Leu

50

55

60

Asp Lys Met Ala Ser Glu Gly Met Arg Phe Val Asp Phe His Ala Ala

65

70

75

80

Ala Ser Thr Cys Ser Pro Ser Arg Ala Ser Leu Leu Thr Gly Arg Leu

85

90

95

Gly Leu Arg Asn Gly Val Thr Arg Asn Phe Ala Val Thr Ser Val Gly

100

105

110

Gly Leu Pro Leu Asn Glu Thr Thr Leu Ala Glu Val Leu Gln Gln Ala

115

120

125

Gly Tyr Val Thr Gly Ile Ile Gly Lys Trp His Leu Gly His His Gly

15/158

130

135

140

Ser Tyr His Pro Asn Phe Arg Gly Phe Asp Tyr Tyr Phe Gly Ile Pro

145

150

155

160

Tyr Ser His Asp Met Gly Cys Thr Asp Thr Pro Gly Tyr Asn His Pro

165

170

175

Pro Cys Pro Ala Cys Pro Gln Gly Asp Gly Pro Ser Arg Asn Leu Gln

180

185

190

Arg Asp Cys Tyr Thr Asp Val Ala Leu Pro Leu Tyr Glu Asn Leu Asn

195

200

205

Ile Val Glu Gln Pro Val Asn Leu Ser Ser Leu Ala Gln Lys Tyr Ala

210

215

220



16/158

Glu Lys Ala Thr Gln Phe Ile Gln Arg Ala Ser Thr Ser Gly Arg Pro

225

230

235

240

Phe Leu Leu Tyr Val Ala Leu Ala His Met His Val Pro Leu Pro Val

245

250

255

Thr Gln Leu Pro Ala Ala Pro Arg Gly Arg Ser Leu Tyr Gly Ala Gly

260

265

270

Leu Trp Glu Met Asp Ser Leu Val Gly Gln Ile Lys Asp Lys Val Asp

275

280

285

His Thr Val Lys Glu Asn Thr Phe Leu Trp Phe Thr Gly Asp Asn Gly

290

295

300

17/158

Pro Trp Ala Gln Lys Cys Glu Leu Ala Gly Ser Val Gly Pro Phe Thr

305

310

315

320

Gly Phe Trp Gln Thr Arg Gln Gly Gly Ser Pro Ala Lys Gln Thr Thr

325

330

335

Trp Glu Gly Gly His Arg Val Pro Ala Leu Ala Tyr Trp Pro Gly Arg

340

345

350

Val Pro Val Asn Val Thr Ser Thr Ala Leu Leu Ser Val Leu Asp Ile

355

360

365

Phe Pro Thr Val Val Ala Leu Ala Gln Ala Ser Leu Pro Gln Gly Arg

370

375

380

18/158

Arg Phe Asp Gly Val Asp Val Ser Glu Val Leu Phe Gly Arg Ser Gln

385

390

395

400

Pro Gly His Arg Val Leu Phe His Pro Asn Ser Gly Ala Ala Gly Glu

405

410

415

Phe Gly Ala Leu Gln Thr Val Arg Leu Glu Arg Tyr Lys Ala Phe Tyr

420

425

430

Ile Thr Gly Gly Ala Arg Ala Cys Asp Gly Ser Thr Gly Pro Glu Leu

435

440

445

Gln His Lys Phe Pro Leu Ile Phe Asn Leu Glu Asp Asp Thr Ala Glu

450

455

460

Ala Val Pro Leu Glu Arg Gly Gly Ala Glu Tyr Gln Ala Val Leu Pro

19/158

465

470

475

480

Glu Val Arg Lys Val Leu Ala Asp Val Leu Gln Asp Ile Ala Asn Asp

485

490

495

Asn Ile Ser Ser Pro Asp Tyr Thr Gln Asp Pro Ser Val Thr Pro Cys

500

505

510

Cys Asn Pro Tyr Gln Ile Ala Cys Arg Cys Gln Ala Ala

515

520

525

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 2258

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

20/158

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (20)..(1201)

&lt;400&gt; 3

ggcgttggt gctagagcg atg ccg ggc cgg agt tgc gtc gcc tta gtc ctc 52

Met Pro Gly Arg Ser Cys Val Ala Leu Val Leu

1 5 10

ctg gct gcc gcg tca gct gtg ccg tcg cag cac gcg ccg ccg tgg aca 100

Leu Ala Ala Ala Ser Ala Val Pro Ser Gln His Ala Pro Pro Trp Thr

15 20 25

gag gac tgc aga aaa tca acc tat cct cct tca gga cca acg tac aga 148

Glu Asp Cys Arg Lys Ser Thr Tyr Pro Pro Ser Gly Pro Thr Tyr Arg

30 35 40

ggt gca gtt cca tgg tac acc ata aat ctt gac tta cca ccc tac aaa 196

Gly Ala Val Pro Trp Tyr Thr Ile Asn Leu Asp Leu Pro Pro Tyr Lys

45 50 55

21/158

aga tgg cat gaa ttg atg ctt gac aag gca cca atg cta aag gtt ata 244

Arg Trp His Glu Leu Met Leu Asp Lys Ala Pro Met Leu Lys Val Ile

60

65

70

75

gtg aat tct ctg aag aat atg ata aat aca ttc gtg cca agt gga aaa 292

Val Asn Ser Leu Lys Asn Met Ile Asn Thr Phe Val Pro Ser Gly Lys

80

85

90

gtt atg cag gtg gtg gat gaa aaa ttg cct ggc cta ctt ggc aac ttt 340

Val Met Gln Val Val Asp Glu Lys Leu Pro Gly Leu Leu Gly Asn Phe

95

100

105

cct ggc cct ttt gaa gag gaa atg aag ggt att gcc gct gtt act gat 388

Pro Gly Pro Phe Glu Glu Glu Met Lys Gly Ile Ala Ala Val Thr Asp

110

115

120

ata cct tta gga gag att att tca ttc aat att ttt tat gaa tta ttt 436

Ile Pro Leu Gly Glu Ile Ile Ser Phe Asn Ile Phe Tyr Glu Leu Phe

125

130

135

acc att tgt act tca ata gta gca gaa gac aaa aaa ggt cat cta ata 484

22/158

Thr Ile Cys Thr Ser Ile Val Ala Glu Asp Lys Lys Gly His Leu Ile

140

145

150

155

cat ggg aga aac atg gat ttt gga gta ttt ctt ggg tgg aac ata aat

532

His Gly Arg Asn Met Asp Phe Gly Val Phe Leu Gly Trp Asn Ile Asn

160

165

170

aat gat acc tgg gtc ata act gag caa cta aaa cct tta aca gtg aat

580

Asn Asp Thr Trp Val Ile Thr Glu Gln Leu Lys Pro Leu Thr Val Asn

175

180

185

ttg gat ttc caa aga aac aac aaa act gtc ttc aag gct tca agc ttt

628

Leu Asp Phe Gln Arg Asn Asn Lys Thr Val Phe Lys Ala Ser Ser Phe

190

195

200

gct ggc tat gtg ggc atg tta aca gga ttc aaa cca gga ctg ttc agt

676

Ala Gly Tyr Val Gly Met Leu Thr Gly Phe Lys Pro Gly Leu Phe Ser

205

210

215

ctt aca ctg aat gaa cgt ttc agt ata aat ggt ggt tat ctg ggt att

724

Leu Thr Leu Asn Glu Arg Phe Ser Ile Asn Gly Gly Tyr Leu Gly Ile

23/158

220

225

230

235

cta gaa tgg att ctg gga aag aaa gat gcc atg tgg ata ggg ttc ctc 772

Leu Glu Trp Ile Leu Gly Lys Lys Asp Ala Met Trp Ile Gly Phe Leu

240

245

250

act aga aca gtt ctg gaa aat agc aca agt tat gaa gaa gcc aag aat 820

Thr Arg Thr Val Leu Glu Asn Ser Thr Ser Tyr Glu Glu Ala Lys Asn

255

260

265

tta ttg acc aag acc aag ata ttg gcc cca gcc tac ttt atc ctg gga 868

Leu Leu Thr Lys Thr Lys Ile Leu Ala Pro Ala Tyr Phe Ile Leu Gly

270

275

280

ggc aac cag tct ggg gaa ggt tgt gtg att aca cga gac aga aag gaa 916

Gly Asn Gln Ser Gly Glu Gly Cys Val Ile Thr Arg Asp Arg Lys Glu

285

290

295

tca ttg gat gta tat gaa ctc gat gct aag cag ggt aga tgg tat gtg 964

Ser Leu Asp Val Tyr Glu Leu Asp Ala Lys Gln Gly Arg Trp Tyr Val

300

305

310

315



24/158

gta caa aca aat tat gac cgt tgg aaa cat ccc ttc ttc ctt gat gat 1012

Val Gln Thr Asn Tyr Asp Arg Trp Lys His Pro Phe Phe Leu Asp Asp

320

325

330

cgc aga acg cct gca aag atg tgt ctg aac cgc acc agc caa gag aat 1060

Arg Arg Thr Pro Ala Lys Met Cys Leu Asn Arg Thr Ser Gln Glu Asn

335

340

345

atc tca ttt gaa acc atg tat gat gtc ctg tca aca aaa cct gtc ctc 1108

Ile Ser Phe Glu Thr Met Tyr Asp Val Leu Ser Thr Lys Pro Val Leu

350

355

360

aac aag ctg acc gta tac aca acc ttg ata gat gtt acc aaa ggt caa 1156

Asn Lys Leu Thr Val Tyr Thr Thr Leu Ile Asp Val Thr Lys Gly Gln

365

370

375

ttc gaa act tac ctg cgg gac tgc cct gac cct tgt ata ggt tgg 1201

Phe Glu Thr Tyr Leu Arg Asp Cys Pro Asp Pro Cys Ile Gly Trp

380

385

390

25/158

tgagcacacg tctggcctac agaatgcggc ctctgagaca tgaagacacc atctccatgt 1261

gaccgaacac tgcagctgtc tgaccttcca aagactaaga ctgcggcag gttctctttg 1321

agtcaatagc ttgtcttcgt ccatctgttg acaaatgaca gacttttttt ttttccccct 1381

atcagttgat ttttcttatt tatagataac ttcttttaggg gaagtaaaac agtcatctag 1441

aattcactga gttttgtttc actttgacat ttggggatct ggtgggcagt cgaaccatgg 1501

tgaactccac ctccgtgaat aaatggagat tcagcgtggg tgttgaatcc agcacgtctg 1561

tgtgagtaac gggacagtaa acaactccaca ttcttcagtt tttcacttct acctacatat 1621

ttgtatgttt ttctgtataa cagccttttc cttctggttc taactgctgt taaaattaat 1681

atatacattat ctttgctgtt attgacagcg atataatttt attacatatg attagaggga 1741

tgagacagac attcacctgt atatttcttt taatgggcac aaaattgggtg cttttgcctc 1801

taaatagcac tttttcgggg tcaagaagta atcagatgca aagcaatcgt ttatacaata 1861

26/158

attgaagcgc acctttcaat accactccag tacctaagga agtgctacta aactgcatcc 1921

acgtctgtat agtaataaca gtcaagctgg aatcgaggac caattaattc caatggcaca 1981

gagtagcatt catgtaataa acagggtttt agtttgttct tcagattgat agggagtttt 2041

aaagaaattt tagtagttac taaaattatg ttactgtatt ttcagaaat ccaactgctt 2101

atgaaaagta ctaatagaac ttgttaacct ttctaacctt cacgattaac tgtgaaatgt 2161

acgtcatttg tgcaagaccg tttgtccact tcattttgta taatcacagt tgtgttcctg 2221

acactcaata aacagtcatt ggaaagagaa aaaaaaa 2258

<210> 4

<211> 394

<212> PRT

<213> Homo sapiens

27/158

&lt;400&gt; 4

Met Pro Gly Arg Ser Cys Val Ala Leu Val Leu Leu Ala Ala Ala Ser

1 5 10 15

Ala Val Pro Ser Gln His Ala Pro Pro Trp Thr Glu Asp Cys Arg Lys

20 25 30

Ser Thr Tyr Pro Pro Ser Gly Pro Thr Tyr Arg Gly Ala Val Pro Trp

35 40 45

Tyr Thr Ile Asn Leu Asp Leu Pro Pro Tyr Lys Arg Trp His Glu Leu

50 55 60

Met Leu Asp Lys Ala Pro Met Leu Lys Val Ile Val Asn Ser Leu Lys

65 70 75 80

28/158

Asn Met Ile Asn Thr Phe Val Pro Ser Gly Lys Val Met Gln Val Val

85

90

95

Asp Glu Lys Leu Pro Gly Leu Leu Gly Asn Phe Pro Gly Pro Phe Glu

100

105

110

Glu Glu Met Lys Gly Ile Ala Ala Val Thr Asp Ile Pro Leu Gly Glu

115

120

125

Ile Ile Ser Phe Asn Ile Phe Tyr Glu Leu Phe Thr Ile Cys Thr Ser

130

135

140

Ile Val Ala Glu Asp Lys Lys Gly His Leu Ile His Gly Arg Asn Met

145

150

155

160

29/158

Asp Phe Gly Val Phe Leu Gly Trp Asn Ile Asn Asn Asp Thr Trp Val

165

170

175

Ile Thr Glu Gln Leu Lys Pro Leu Thr Val Asn Leu Asp Phe Gln Arg

180

185

190

Asn Asn Lys Thr Val Phe Lys Ala Ser Ser Phe Ala Gly Tyr Val Gly

195

200

205

Met Leu Thr Gly Phe Lys Pro Gly Leu Phe Ser Leu Thr Leu Asn Glu

210

215

220

Arg Phe Ser Ile Asn Gly Gly Tyr Leu Gly Ile Leu Glu Trp Ile Leu

225

230

235

240

Gly Lys Lys Asp Ala Met Trp Ile Gly Phe Leu Thr Arg Thr Val Leu

30/158

245

250

255

Glu Asn Ser Thr Ser Tyr Glu Glu Ala Lys Asn Leu Leu Thr Lys Thr

260

265

270

Lys Ile Leu Ala Pro Ala Tyr Phe Ile Leu Gly Gly Asn Gln Ser Gly

275

280

285

Glu Gly Cys Val Ile Thr Arg Asp Arg Lys Glu Ser Leu Asp Val Tyr

290

295

300

Glu Leu Asp Ala Lys Gln Gly Arg Trp Tyr Val Val Gln Thr Asn Tyr

305

310

315

320

Asp Arg Trp Lys His Pro Phe Phe Leu Asp Asp Arg Arg Thr Pro Ala

325

330

335

31/158

Lys Met Cys Leu Asn Arg Thr Ser Gln Glu Asn Ile Ser Phe Glu Thr

340

345

350

Met Tyr Asp Val Leu Ser Thr Lys Pro Val Leu Asn Lys Leu Thr Val

355

360

365

Tyr Thr Thr Leu Ile Asp Val Thr Lys Gly Gln Phe Glu Thr Tyr Leu

370

375

380

Arg Asp Cys Pro Asp Pro Cys Ile Gly Trp

385

390

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 1336

&lt;212&gt; DNA



32/158

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (474)..(1241)

&lt;400&gt; 5

agcacagtcc cgcggacggc tgagcgtgtg gctgcaggag cttctgtggg agtacggtea 60

tgagcctttt gctgtactat gccctccctg ccctgggcag ctatgccatg ctctccatct 120

tcttcctgcg ccggcctcat ctgctgcaca cgcccagggc tcccaccttc cgcacccgcc 180

tgggggcccc ccgaggagga tctggagagc tgctggagaa caccatggag gccatggaga 240

agtgagtgtg tctgcccctg ccaggtctgc catgtgaggg tgtgcaggtc gtggactgca 300

tcacagcaag ggacgccatt cacttcctag ctgggtgact ggogccccct ggaggtggcc 360

tgcacatccc gccacgaact ccgtctcac attcccggcc acctcccagc caccatgccc 420

33/158

ctcatcccag tcccctgccc ctgccccccg ctgaccttca cccccacagc tcc atg 476

Met

1

gcc cag cgc tcg gac ctc ctg gag ctc gac tgt cag ctg aca cgg gac 524

Ala Gln Arg Ser Asp Leu Leu Glu Leu Asp Cys Gln Leu Thr Arg Asp

5

10

15

aga gtg gtg gtg gtg tca cat gat gag aac ctg tgc cgc cag tcg ggc 572

Arg Val Val Val Val Ser His Asp Glu Asn Leu Cys Arg Gln Ser Gly

20

25

30

cta aac agg gat gtg ggc agc ctg gac ttc gag gac ctg ccc ctc tac 620

Leu Asn Arg Asp Val Gly Ser Leu Asp Phe Glu Asp Leu Pro Leu Tyr

35

40

45

aag gag aag ctg gag gtt tac ttc tct cca ggc cac ttt gct cac ggg 668

Lys Glu Lys Leu Glu Val Tyr Phe Ser Pro Gly His Phe Ala His Gly

50

55

60

65

34/158

tca gac cgg cgc atg gtt cgt ctg gag gac ctg ttc cag agg ttt cca 716

Ser Asp Arg Arg Met Val Arg Leu Glu Asp Leu Phe Gln Arg Phe Pro

70

75

80

agg aca ccc atg agc gta gag atc aaa ggg aag aac gaa gag ctc atc 764

Arg Thr Pro Met Ser Val Glu Ile Lys Gly Lys Asn Glu Glu Leu Ile

85

90

95

cgt gag ata gca ggc ttg gtg aga cgc tat gac cgt aat gaa atc acc 812

Arg Glu Ile Ala Gly Leu Val Arg Arg Tyr Asp Arg Asn Glu Ile Thr

100

105

110

atc tgg gcc tcg gag aag agc tcg gtc atg aag aaa tgc aag gct gcc 860

Ile Trp Ala Ser Glu Lys Ser Ser Val Met Lys Lys Cys Lys Ala Ala

115

120

125

aac ccc gag atg ccc ctg tcc ttc aca ata agc cga gga ttc tgg gtg 908

Asn Pro Glu Met Pro Leu Ser Phe Thr Ile Ser Arg Gly Phe Trp Val

130

135

140

145

ctg ctt tcc tac tac ctg ggg ctg ctg ccc ttc atc cca atc cct gag 956

35/158

Leu Leu Ser Tyr Tyr Leu Gly Leu Leu Pro Phe Ile Pro Ile Pro Glu

150

155

160

aag ttc ttc ttc tgc ttc ctg ccc aac atc atc aac agg acc tat ttc 1004

Lys Phe Phe Phe Cys Phe Leu Pro Asn Ile Ile Asn Arg Thr Tyr Phe

165

170

175

cca ttt tcc tgc tct tgc ctg aac cag tta ttg gct gtg gtt tcg aaa 1052

Pro Phe Ser Cys Ser Cys Leu Asn Gln Leu Leu Ala Val Val Ser Lys

180

185

190

tgg ctg atc atg agg aag agt ctg atc cga cac ttg gag gag cga ggg 1100

Trp Leu Ile Met Arg Lys Ser Leu Ile Arg His Leu Glu Glu Arg Gly

195

200

205

gtg cag gtg gtc ttt tgg tgc ctt aat gaa gag tcg gat ttt gaa gca 1148

Val Gln Val Val Phe Trp Cys Leu Asn Glu Glu Ser Asp Phe Glu Ala

210

215

220

225

gcc ttc agc gtg gga gcc act ggc gtc ata acg gat tat ccc aca gcc 1196

Ala Phe Ser Val Gly Ala Thr Gly Val Ile Thr Asp Tyr Pro Thr Ala

36/158

230

235

240

ctg cgg cac tac ctg gac aac cat gga cca gct gcc cgg acc tcc 1241

Leu Arg His Tyr Leu Asp Asn His Gly Pro Ala Ala Arg Thr Ser

245

250

255

taagtcaga agcctcgagg tcttctgttt ctcttcctga aaaataaata ttgaccttc 1301

gatcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa. 1336

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 256

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo. sapiens

&lt;400&gt; 6

Met Ala Gln Arg Ser Asp Leu Leu Glu Leu Asp Cys Gln Leu Thr Arg

1

5

10

15

37/158

Asp Arg Val Val Val Val Ser His Asp Glu Asn Leu Cys Arg Gln Ser

20

25

30

Gly Leu Asn Arg Asp Val Gly Ser Leu Asp Phe Glu Asp Leu Pro Leu

35

40

45

Tyr Lys Glu Lys Leu Glu Val Tyr Phe Ser Pro Gly His Phe Ala His

50

55

60

Gly Ser Asp Arg Arg Met Val Arg Leu Glu Asp Leu Phe Gln Arg Phe

65

70

75

80

Pro Arg Thr Pro Met Ser Val Glu Ile Lys Gly Lys Asn Glu Glu Leu

85

90

95

38/158

Ile Arg Glu Ile Ala Gly Leu Val Arg Arg Tyr Asp Arg Asn Glu Ile

100

105

110

Thr Ile Trp Ala Ser Glu Lys Ser Ser Val Met Lys Lys Cys Lys Ala

115

120

125

Ala Asn Pro Glu Met Pro Leu Ser Phe Thr Ile Ser Arg Gly Phe Trp

130

135

140

Val Leu Leu Ser Tyr Tyr Leu Gly Leu Leu Pro Phe Ile Pro Ile Pro

145

150

155

160

Glu Lys Phe Phe Phe Cys Phe Leu Pro Asn Ile Ile Asn Arg Thr Tyr

165

170

175

Phe Pro Phe Ser Cys Ser Cys Leu Asn Gln Leu Leu Ala Val Val Ser

39/158

180

185

190

Lys Trp Leu Ile Met Arg Lys Ser Leu Ile Arg His Leu Glu Glu Arg

195

200

205

Gly Val Gln Val Val Phe Trp Cys Leu Asn Glu Glu Ser Asp Phe Glu

210

215

220

Ala Ala Phe Ser Val Gly Ala Thr Gly Val Ile Thr Asp Tyr Pro Thr

225

230

235

240

Ala Leu Arg His Tyr Leu Asp Asn His Gly Pro Ala Ala Arg Thr Ser

245

250

255

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 2631



40/158

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (19).. (2214)

&lt;400&gt; 7

gagagcactg cagcagca atg acg gag ggc acg tgt ctg cgg cgc cga ggg 51

Met Thr Glu Gly Thr Cys Leu Arg Arg Arg Gly

1

5

10

ggc ccc tac aag acc gag ccc gcc acc gac ctc ggc cgc tgg cga ctc 99

Gly Pro Tyr Lys Thr Glu Pro Ala Thr Asp Leu Gly Arg Trp Arg Leu

15

20

25

aac tgc gag agg ggc cgg cag acg tgg acc tac ctg cag gac gag cgc 147

Asn Cys Glu Arg Gly Arg Gln Thr Trp Thr Tyr Leu Gln Asp Glu Arg

30

35

40

41/158

gcc ggc cgc gag cag acc ggc ctg gaa gcc tac gcc ctg ggg ctg gac 195

Ala Gly Arg Glu Gln Thr Gly Leu Glu Ala Tyr Ala Leu Gly Leu Asp

45

50

55

acc aag aat tac ttt aag gac ttg ccc aaa gcc cac acc gcc ttt gag 243

Thr Lys Asn Tyr Phe Lys Asp Leu Pro Lys Ala His Thr Ala Phe Glu

60

65

70

75

ggg gct ctg aac ggg atg aca ttt tac gtg ggg ctg cag gct gag gat 291

Gly Ala Leu Asn Gly Met Thr Phe Tyr Val Gly Leu Gln Ala Glu Asp

80

85

90

ggg cac tgg acg ggt gat tat ggt ggc cca ctt ttc ctc ctg cca ggc 339

Gly His Trp Thr Gly Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Phe Leu Leu Pro Gly

95

100

105

ctc ctg atc act tgc cac gtg gca cgc atc cct ctg cca gcc gga tac 387

Leu Leu Ile Thr Cys His Val Ala Arg Ile Pro Leu Pro Ala Gly Tyr

110

115

120

aga gaa gag att gtg cgg tac ctg cgg tca gtg cag ctc cct gac ggt 435

42/158

Arg Glu Glu Ile Val Arg Tyr Leu Arg Ser Val Gln Leu Pro Asp Gly

125

130

135

ggc tgg ggc ctg cac att gag gat aag tcc acc gtg ttt ggg act gcg 483

Gly Trp Gly Leu His Ile Glu Asp Lys Ser Thr Val Phe Gly Thr Ala

140

145

150

155

ctc aac tat gtg tct ctc aga att ctg ggt gtt ggg cct gac gat cct 531

Leu Asn Tyr Val Ser Leu Arg Ile Leu Gly Val Gly Pro Asp Asp Pro

160

165

170

gac ctg gta cga gcc cgg aac att ctt cac aag aaa ggt ggt gct gtg 579

Asp Leu Val Arg Ala Arg Asn Ile Leu His Lys Lys Gly Gly Ala Val

175

180

185

gcc atc ccc tcc tgg ggg aag ttc tgg ctg gct gtc ctg aat gtt tac 627

Ala Ile Pro Ser Trp Gly Lys Phe Trp Leu Ala Val Leu Asn Val Tyr

190

195

200

agc tgg gaa ggc ctc aat acc ctg ttc cca gag atg tgg ctg ttt cct 675

Ser Trp Glu Gly Leu Asn Thr Leu Phe Pro Glu Met Trp Leu Phe Pro

43/158

205

210

215

gac tgg gca ccg gca cac ccc tcc aca ctc tgg tgc cac tgc cgg cag 723

Asp Trp Ala Pro Ala His Pro Ser Thr Leu Trp Cys His Cys Arg Gln

220

225

230

235

gtg tac ctg ccc atg agc tac tgc tac gcc gtt cgg ctg agt gcc gcg 771

Val Tyr Leu Pro Met Ser Tyr Cys Tyr Ala Val Arg Leu Ser Ala Ala

240

245

250

gaa gac ccg ctg gtc cag agc ctc cgc cag gag ctc tat gtg gag gac 819

Glu Asp Pro Leu Val Gln Ser Leu Arg Gln Glu Leu Tyr Val Glu Asp

255

260

265

ttc gcc agc att gac tgg ctg gcg cag agg aac aac gtg gcc ccc gac 867

Phe Ala Ser Ile Asp Trp Leu Ala Gln Arg Asn Asn Val Ala Pro Asp

270

275

280

gag ctg tac acg ccg cac agc tgg ctg ctc cgc gtg gta tat gcg ctc 915

Glu Leu Tyr Thr Pro His Ser Trp Leu Leu Arg Val Val Tyr Ala Leu

285

290

295

44/158

ctc aac ctg tat gag cac cac cac agt gcc cac ctg cgg cag cgg gcc 963  
Leu Asn Leu Tyr Glu His His His Ser Ala His Leu Arg Gln Arg Ala  
300 305 310 315

gtg cag aag ctg tat gaa cac att gtg gcc gac gac cga ttc acc aag 1011  
Val Gln Lys Leu Tyr Glu His Ile Val Ala Asp Asp Arg Phe Thr Lys  
320 325 330

agc atc agc atc ggc ccg atc tcg aaa acc atc aac atg ctt gtg cgc 1059  
Ser Ile Ser Ile Gly Pro Ile Ser Lys Thr Ile Asn Met Leu Val Arg  
335 340 345

tgg tat gtg gac ggg ccc gcc tcc act gcc ttc cag gag cat gtc tcc 1107  
Trp Tyr Val Asp Gly Pro Ala Ser Thr Ala Phe Gln Glu His Val Ser  
350 355 360

aga atc ccg gac tat ctc tgg atg ggc ctt gac ggc atg aaa atg cag 1155  
Arg Ile Pro Asp Tyr Leu Trp Met Gly Leu Asp Gly Met Lys Met Gln  
365 370 375

45/158

ggc acc aac ggc tca cag atc tgg gac acc gca ttc gcc atc cag gct 1203

Gly Thr Asn Gly Ser Gln Ile Trp Asp Thr Ala Phe Ala Ile Gln Ala

380 385 390 395

ctg ctt gag gcg ggc ggg cac cac agg ccc gag ttt tcg tcc tgc ctg 1251

Leu Leu Glu Ala Gly Gly His His Arg Pro Glu Phe Ser Ser Cys Leu

400 405 410

cag aag gct cat gag ttc ctg agg ctc tca cag gtc cca gat aac cct 1299

Gln Lys Ala His Glu Phe Leu Arg Leu Ser Gln Val Pro Asp Asn Pro

415 420 425

ccc gac tac cag aag tac tac cgc cag atg cgc aag ggt ggc ttc tcc 1347

Pro Asp Tyr Gln Lys Tyr Tyr Arg Gln Met Arg Lys Gly Gly Phe Ser

430 435 440

ttc agt acg ctg gac tgc ggc tgg atc gtt tct gac tgc acg gct gag 1395

Phe Ser Thr Leu Asp Cys Gly Trp Ile Val Ser Asp Cys Thr Ala Glu

445 450 455

gcc ttg aag gct gtg ctg ctc ctg cag gag aag tgt ccc cat gtc acc 1443

46/158

Ala Leu Lys Ala Val Leu Leu Leu Gln Glu Lys Cys Pro His Val Thr

460

465

470

475

gag cac atc ccc aga gaa cgg ctc tgc gat gct gtg gct gtg ctg ctg 1491

Glu His Ile Pro Arg Glu Arg Leu Cys Asp Ala Val Ala Val Leu Leu

480

485

490

aac atg aga aat cca gat gga ggg ttc gcc acc tat gag acc aag cgt 1539

Asn Met Arg Asn Pro Asp Gly Gly Phe Ala Thr Tyr Glu Thr Lys Arg

495

500

505

ggg ggg cac ttg ctg gag ctg ctg aac ccc tcg gag gtc ttc ggg gac 1587

Gly Gly His Leu Leu Glu Leu Leu Asn Pro Ser Glu Val Phe Gly Asp

510

515

520

atc atg att gac tac acc tat gtg gag tgc acc tca gcc gtg atg cag 1635

Ile Met Ile Asp Tyr Thr Tyr Val Glu Cys Thr Ser Ala Val Met Gln

525

530

535

gcg ctt aag tat ttc cac aag cgt ttc ccg gag cac agg gca gcg gag 1683

Ala Leu Lys Tyr Phe His Lys Arg Phe Pro Glu His Arg Ala Ala Glu

47/158

540	545	550	555	
atc cgg gag acc ctc acg cag ggc tta gag ttc tgt cgg cgg cag cag				1731
Ile Arg Glu Thr Leu Thr Gln Gly Leu Glu Phe Cys Arg Arg Gln Gln				
	560	565	570	
agg gcc gat ggc tcc tgg gaa ggc tcc tgg gga gtt tgc ttc acc tac				1779
Arg Ala Asp Gly Ser Trp Glu Gly Ser Trp Gly Val Cys Phe Thr Tyr				
	575	580	585	
ggc acc tgg ttt ggc ctg gag gcc ttc gcc tgt atg ggg cag acc tac				1827
Gly Thr Trp Phe Gly Leu Glu Ala Phe Ala Cys Met Gly Gln Thr Tyr				
	590	595	600	
cga gat ggg act gcc tgt gca gag gtc tcc cgg gcc tgt gac ttc ctg				1875
Arg Asp Gly Thr Ala Cys Ala Glu Val Ser Arg Ala Cys Asp Phe Leu				
	605	610	615	
ctg tcc cgg cag atg gca gac gga ggc tgg ggg gag gac ttt gag tcc				1923
Leu Ser Arg Gln Met Ala Asp Gly Gly Trp Gly Glu Asp Phe Glu Ser				
620	625	630	635	



48/158

tgc gag gag cgg cgt tat ttg cag agt gcc cag tcc cag atc cat aac 1971

Cys Glu Glu Arg Arg Tyr Leu Gln Ser Ala Gln Ser Gln Ile His Asn

640

645

650

aca tgc tgg gcc atg atg ggg ctg atg gcc gtt cgg cat cct gac atc 2019

Thr Cys Trp Ala Met Met Gly Leu Met Ala Val Arg His Pro Asp Ile

655

660

665

gag gcc cag gag aga gga gtc cgg tgt cta ctt gag aaa cag ctc ccc 2067

Glu Ala Gln Glu Arg Gly Val Arg Cys Leu Leu Glu Lys Gln Leu Pro

670

675

680

aat ggc gac tgg ccg cag gaa aac att gct ggg gtc ttc aac aag tcc 2115

Asn Gly Asp Trp Pro Gln Glu Asn Ile Ala Gly Val Phe Asn Lys Ser

685

690

695

tgt gcc atc tcc tac acg agc tac agg aac atc ttc ccc atc tgg gcc 2163

Cys Ala Ile Ser Tyr Thr Ser Tyr Arg Asn Ile Phe Pro Ile Trp Ala

700

705

710

715

49/158

ctc ggc cgc ttc tcc cag ctg tac cct gag aga gcc ctt gct ggc cac 2211

Leu Gly Arg Phe Ser Gln Leu Tyr Pro Glu Arg Ala Leu Ala Gly His

720

725

730

ccc tgagaacatg cctacctgct ggggtgccgtc tgtgcgttcc atggccttca 2264

Pro

agtcacagga cgcagcgatt ccctgccctc ttcgggtgta ttacacaggc aggacttcag 2324

tgtcagtatc cctgccttca gtcttcttta gaaatcacat ctgtgttcaa tccattgttt 2384

agagggagtg tatttttcct gtccacgaa gaggactttt tgttcacaat tggatcacia 2444

tgacagaggag tctgttcctc ccccgctggc ttctcggtgc tgggaggggtg acctgtccca 2504

gatgactcat caccctgaca tgctcttgac aaaggacacc accaagagga gatggcagct 2564

gtaccggtgc agcctctgtc tgagggggat atttgcctca gtgtgattaa aaatcagtca 2624

tgaaaga

2631

50/158

&lt;210&gt; 8

&lt;211&gt; 732

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 8

Met Thr Glu Gly Thr Cys Leu Arg Arg Arg Gly Gly Pro Tyr Lys Thr

1

5

10

15

Glu Pro Ala Thr Asp Leu Gly Arg Trp Arg Leu Asn Cys Glu Arg Gly

20

25

30

Arg Gln Thr Trp Thr Tyr Leu Gln Asp Glu Arg Ala Gly Arg Glu Gln

35

40

45

51/158

Thr Gly Leu Glu Ala Tyr Ala Leu Gly Leu Asp Thr Lys Asn Tyr Phe

50

55

60

Lys Asp Leu Pro Lys Ala His Thr Ala Phe Glu Gly Ala Leu Asn Gly

65

70

75

80

Met Thr Phe Tyr Val Gly Leu Gln Ala Glu Asp Gly His Trp Thr Gly

85

90

95

Asp Tyr Gly Gly Pro Leu Phe Leu Leu Pro Gly Leu Leu Ile Thr Cys

100

105

110

His Val Ala Arg Ile Pro Leu Pro Ala Gly Tyr Arg Glu Glu Ile Val

115

120

125

Arg Tyr Leu Arg Ser Val Gln Leu Pro Asp Gly Gly Trp Gly Leu His

52/158

130

135

140

Ile Glu Asp Lys Ser Thr Val Phe Gly Thr Ala Leu Asn Tyr Val Ser

145

150

155

160

Leu Arg Ile Leu Gly Val Gly Pro Asp Asp Pro Asp Leu Val Arg Ala

165

170

175

Arg Asn Ile Leu His Lys Lys Gly Gly Ala Val Ala Ile Pro Ser Trp

180

185

190

Gly Lys Phe Trp Leu Ala Val Leu Asn Val Tyr Ser Trp Glu Gly Leu

195

200

205

Asn Thr Leu Phe Pro Glu Met Trp Leu Phe Pro Asp Trp Ala Pro Ala

210

215

220

53/158

His Pro Ser Thr Leu Trp Cys His Cys Arg Gln Val Tyr Leu Pro Met  
225 230 235 240

Ser Tyr Cys Tyr Ala Val Arg Leu Ser Ala Ala Glu Asp Pro Leu Val  
245 250 255

Gln Ser Leu Arg Gln Glu Leu Tyr Val Glu Asp Phe Ala Ser Ile Asp  
260 265 270

Trp Leu Ala Gln Arg Asn Asn Val Ala Pro Asp Glu Leu Tyr Thr Pro  
275 280 285

His Ser Trp Leu Leu Arg Val Val Tyr Ala Leu Leu Asn Leu Tyr Glu  
290 295 300

54/158

His His His Ser Ala His Leu Arg Gln Arg Ala Val Gln Lys Leu Tyr

305

310

315

320

Glu His Ile Val Ala Asp Asp Arg Phe Thr Lys Ser Ile Ser Ile Gly

325

330

335

Pro Ile Ser Lys Thr Ile Asn Met Leu Val Arg Trp Tyr Val Asp Gly

340

345

350

Pro Ala Ser Thr Ala Phe Gln Glu His Val Ser Arg Ile Pro Asp Tyr

355

360

365

Leu Trp Met Gly Leu Asp Gly Met Lys Met Gln Gly Thr Asn Gly Ser

370

375

380

55/158

Gln Ile Trp Asp Thr Ala Phe Ala Ile Gln Ala Leu Leu Glu Ala Gly

385

390

395

400

Gly His His Arg Pro Glu Phe Ser Ser Cys Leu Gln Lys Ala His Glu

405

410

415

Phe Leu Arg Leu Ser Gln Val Pro Asp Asn Pro Pro Asp Tyr Gln Lys

420

425

430

Tyr Tyr Arg Gln Met Arg Lys Gly Gly Phe Ser Phe Ser Thr Leu Asp

435

440

445

Cys Gly Trp Ile Val Ser Asp Cys Thr Ala Glu Ala Leu Lys Ala Val

450

455

460

Leu Leu Leu Gln Glu Lys Cys Pro His Val Thr Glu His Ile Pro Arg



56/158

465

470

475

480

Glu Arg Leu Cys Asp Ala Val Ala Val Leu Leu Asn Met Arg Asn Pro

485

490

495

Asp Gly Gly Phe Ala Thr Tyr Glu Thr Lys Arg Gly Gly His Leu Leu

500

505

510

Glu Leu Leu Asn Pro Ser Glu Val Phe Gly Asp Ile Met Ile Asp Tyr

515

520

525

Thr Tyr Val Glu Cys Thr Ser Ala Val Met Gln Ala Leu Lys Tyr Phe

530

535

540

His Lys Arg Phe Pro Glu His Arg Ala Ala Glu Ile Arg Glu Thr Leu

545

550

555

560

57/158

Thr Gln Gly Leu Glu Phe Cys Arg Arg Gln Gln Arg Ala Asp Gly Ser

565

570

575

Trp Glu Gly Ser Trp Gly Val Cys Phe Thr Tyr Gly Thr Trp Phe Gly

580

585

590

Leu Glu Ala Phe Ala Cys Met Gly Gln Thr Tyr Arg Asp Gly Thr Ala

595

600

605

Cys Ala Glu Val Ser Arg Ala Cys Asp Phe Leu Leu Ser Arg Gln Met

610

615

620

Ala Asp Gly Gly Trp Gly Glu Asp Phe Glu Ser Cys Glu Glu Arg Arg

625

630

635

640

58/158

Tyr Leu Gln Ser Ala Gln Ser Gln Ile His Asn Thr Cys Trp Ala Met

645

650

655

Met Gly Leu Met Ala Val Arg His Pro Asp Ile Glu Ala Gln Glu Arg

660

665

670

Gly Val Arg Cys Leu Leu Glu Lys Gln Leu Pro Asn Gly Asp Trp Pro

675

680

685

Gln Glu Asn Ile Ala Gly Val Phe Asn Lys Ser Cys Ala Ile Ser Tyr

690

695

700

Thr Ser Tyr Arg Asn Ile Phe Pro Ile Trp Ala Leu Gly Arg Phe Ser

705

710

715

720

59/158

Gln Leu Tyr Pro Glu Arg Ala Leu Ala Gly His Pro

725

730

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 1168

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (30)..(800)

&lt;400&gt; 9

gagctggaag tgagagcaga tccctaacc atg agc acc agc caa cca ggg gcc 53

Met Ser Thr Ser Gln Pro Gly Ala

1

5

tgc cca tgc cag gga gct gca agc cgc ccc gcc att ctc tac gca ctt 101

Cys Pro Cys Gln Gly Ala Ala Ser Arg Pro Ala Ile Leu Tyr Ala Leu

60/158

10	15	20	
ctg agc tcc agc ctc aag gct gtc ccc cga ccc cgt agc cgc tgc cta 149			
Leu Ser Ser Ser Leu Lys Ala Val Pro Arg Pro Arg Ser Arg Cys Leu			
25	30	35	40
tgt agg cag cac cgg ccc gtc cag cta tgt gca cct cat cgc acc tgc 197			
Cys Arg Gln His Arg Pro Val Gln Leu Cys Ala Pro His Arg Thr Cys			
	45	50	55
cgg gag gcc ttg gat gtt ctg gcc aag aca gtg gcc ttc ctc agg aac 245			
Arg Glu Ala Leu Asp Val Leu Ala Lys Thr Val Ala Phe Leu Arg Asn			
	60	65	70
ctg cca tcc ttc tgg cag ctg cct ccc cag gac cag cgg cgg ctg ctg 293			
Leu Pro Ser Phe Trp Gln Leu Pro Pro Gln Asp Gln Arg Arg Leu Leu			
	75	80	85
cag ggt tgc tgg ggc ccc ctc ttc ctg ctt ggg ttg gcc caa gat gct 341			
Gln Gly Cys Trp Gly Pro Leu Phe Leu Leu Gly Leu Ala Gln Asp Ala			
90	95	100	

61/158

gtg acc ttt gag gtg gct gag gcc ccg gtg ccc agc ata ctc aag aag 389

Val Thr Phe Glu Val Ala Glu Ala Pro Val Pro Ser Ile Leu Lys Lys

105 110 115 120

att ctg ctg gag gag ccc agc agc agt gga ggc agt ggc caa ctg cca 437

Ile Leu Leu Glu Glu Pro Ser Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gln Leu Pro

125 130 135

gac aga ccc cag ccc tcc ctg gct gcg gtg cag tgg ctt caa tgc tgt 485

Asp Arg Pro Gln Pro Ser Leu Ala Ala Val Gln Trp Leu Gln Cys Cys

140 145 150

ctg gag tcc ttc tgg agc ctg gag ctt agc ccc aag gaa tat gcc tgc 533

Leu Glu Ser Phe Trp Ser Leu Glu Leu Ser Pro Lys Glu Tyr Ala Cys

155 160 165

ctg aaa ggg acc atc ctc ttc aac ccc gat gtg cca ggc ctc caa gcc 581

Leu Lys Gly Thr Ile Leu Phe Asn Pro Asp Val Pro Gly Leu Gln Ala

170 175 180

62/158

gcc tcc cac att ggg cac ctg cag cag gag gct cac tgg gtg ctg tgt 629

Ala Ser His Ile Gly His Leu Gln Gln Glu Ala His Trp Val Leu Cys

185 190 195 200

gaa gtc ctg gaa ccc tgg tgc cca gca gcc caa ggc cgc ctg acc cgt 677

Glu Val Leu Glu Pro Trp Cys Pro Ala Ala Gln Gly Arg Leu Thr Arg

205 210 215

gtc ctc ctc acg gcc tcc acc ctc aag tcc att ccg acc agc ctg ctt 725

Val Leu Leu Thr Ala Ser Thr Leu Lys Ser Ile Pro Thr Ser Leu Leu

220 225 230

ggg gac ctc ttc ttt cgc cct atc att gga gat gtt gac atc gct ggc 773

Gly Asp Leu Phe Phe Arg Pro Ile Ile Gly Asp Val Asp Ile Ala Gly

235 240 245

ctt ctt ggg gac atg ctt ttg ctc agg tgacctgttc cagcccaggc 820

Leu Leu Gly Asp Met Leu Leu Leu Arg

250 255

agagatcagg tgggcagagg ctggcagtgc tgattcagcc tggccatccc cagaggtgac 880

63/158

ccaatgctcc tggaggggca agcctgtata gacagcactt ggctccttag gaacagctct 940

tcactcagcc acaccccaca ttggacttcc ttggtttgga cacagtgctc cagctgcctg 1000

ggaggttttt ggtgggtccc acagcctctg ggccaagact cctgtccctt cttgggatga 1060

gaatgaaagc ttaggctgct tattggacca gaagtcctat cgactttata cagaactgaa 1120

ttaagttatt gatttttgta ataaaaggta tgaaacacta aaaaaaaaa 1168

<210> 10

<211> 257

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Met Ser Thr Ser Gln Pro Gly Ala Cys Pro Cys Gln Gly Ala Ala Ser

1

5

10

15



64/158

Arg Pro Ala Ile Leu Tyr Ala Leu Leu Ser Ser Ser Leu Lys Ala Val

20

25

30

Pro Arg Pro Arg Ser Arg Cys Leu Cys Arg Gln His Arg Pro Val Gln

35

40

45

Leu Cys Ala Pro His Arg Thr Cys Arg Glu Ala Leu Asp Val Leu Ala

50

55

60

Lys Thr Val Ala Phe Leu Arg Asn Leu Pro Ser Phe Trp Gln Leu Pro

65

70

75

80

Pro Gln Asp Gln Arg Arg Leu Leu Gln Gly Cys Trp Gly Pro Leu Phe

85

90

95

65/158

Leu Leu Gly Leu Ala Gln Asp Ala Val Thr Phe Glu Val Ala Glu Ala

100

105

110

Pro Val Pro Ser Ile Leu Lys Lys Ile Leu Leu Glu Glu Pro Ser Ser

115

120

125

Ser Gly Gly Ser Gly Gln Leu Pro Asp Arg Pro Gln Pro Ser Leu Ala

130

135

140

Ala Val Gln Trp Leu Gln Cys Cys Leu Glu Ser Phe Trp Ser Leu Glu

145

150

155

160

Leu Ser Pro Lys Glu Tyr Ala Cys Leu Lys Gly Thr Ile Leu Phe Asn

165

170

175

66/158

Pro Asp Val Pro Gly Leu Gln Ala Ala Ser His Ile Gly His Leu Gln

180

185

190

Gln Glu Ala His Trp Val Leu Cys Glu Val Leu Glu Pro Trp Cys Pro

195

200

205

Ala Ala Gln Gly Arg Leu Thr Arg Val Leu Leu Thr Ala Ser Thr Leu

210

215

220

Lys Ser Ile Pro Thr Ser Leu Leu Gly Asp Leu Phe Phe Arg Pro Ile

225

230

235

240

Ile Gly Asp Val Asp Ile Ala Gly Leu Leu Gly Asp Met Leu Leu Leu

245

250

255

Arg

67/158

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 489

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (43)..(423)

&lt;400&gt; 11

agagccgcag gtcagtcgtg aagaggagc tctattgccca cc atg agt ttc tcc 54

Met Ser Phe Ser

1

ggc aag tac caa ctg cag agc cag gaa aac ttt gaa gcc ttc atg aag 102

Gly Lys Tyr Gln Leu Gln Ser Gln Glu Asn Phe Glu Ala Phe Met Lys

5

10

15

20

68/158

gca atc ggt ctg ccg gaa gag ctc atc cag aag ggg aag gat atc aag 150

Ala Ile Gly Leu Pro Glu Glu Leu Ile Gln Lys Gly Lys Asp Ile Lys

25

30

35

ggg gtg tcg gaa atc gtg cag aat ggg aag cac ttc aag ttc acc atc 198

Gly Val Ser Glu Ile Val Gln Asn Gly Lys His Phe Lys Phe Thr Ile

40

45

50

acc gct ggg tcc aaa gtg atc caa aac gaa ttc acg gtg ggg gag gaa 246

Thr Ala Gly Ser Lys Val Ile Gln Asn Glu Phe Thr Val Gly Glu Glu

55

60

65

tgt gag ctg gag aca atg aca ggg gag aaa gtc aag aca gtg gtt cag 294

Cys Glu Leu Glu Thr Met Thr Gly Glu Lys Val Lys Thr Val Val Gln

70

75

80

ttg gaa ggt gac aat aaa ctg gtg aca act ttc aaa aac atc aag tct 342

Leu Glu Gly Asp Asn Lys Leu Val Thr Thr Phe Lys Asn Ile Lys Ser

85

90

95

100

69/158

gtg acc gaa ctc aac ggc gac ata atc acc aat acc atg aca ttg ggt 390

Val Thr Glu Leu Asn Gly Asp Ile Ile Thr Asn Thr Met Thr Leu Gly

105

110

115

gac att gtc ttc aag aga atc agc aag aga att taaacaagtc tgcatttcac 443

Asp Ile Val Phe Lys Arg Ile Ser Lys Arg Ile

120

125

attatttttag tgtgtaaaat taatgtaata aagtgaactt tgtttt 489

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 127

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 12

Met Ser Phe Ser Gly Lys Tyr Gln Leu Gln Ser Gln Glu Asn Phe Glu

1

5

10

15

70/158

Ala Phe Met Lys Ala Ile Gly Leu Pro Glu Glu Leu Ile Gln Lys Gly

20

25

30

Lys Asp Ile Lys Gly Val Ser Glu Ile Val Gln Asn Gly Lys His Phe

35

40

45

Lys Phe Thr Ile Thr Ala Gly Ser Lys Val Ile Gln Asn Glu Phe Thr

50

55

60

Val Gly Glu Glu Cys Glu Leu Glu Thr Met Thr Gly Glu Lys Val Lys

65

70

75

80

Thr Val Val Gln Leu Glu Gly Asp Asn Lys Leu Val Thr Thr Phe Lys

85

90

95

71/158

Asn Ile Lys Ser Val Thr Glu Leu Asn Gly Asp Ile Ile Thr Asn Thr

100

105

110

Met Thr Leu Gly Asp Ile Val Phe Lys Arg Ile Ser Lys Arg Ile

115

120

125

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 1783

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (246).. (1496)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; sig\_peptide

&lt;222&gt; (246).. (731)



72/158

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; mat\_peptide

&lt;222&gt; (732)..(1496)

&lt;400&gt; 13

tcgagcccgcc tttccaggga ccctacctga gggcccacag gtgaggcagc ctggcctagc 60

aggccccaag ccaccgcctc tgcctccagg ccgcccgtg ctgcggggcc accatgctcc 120

tgcccaggcc tggagactga ccgaccccg gcactacctc gaggtccgc cccacctgc 180

tggaccccag ggtcccaccc tggcccagga ggtcagccag ggaatcatta acaagaggca 240

gtgac atg ggc cag aag gag ggt ggc cgg act gtg cca tgc tgc tcc 287

Met Ala Gln Lys Glu Gly Gly Arg Thr Val Pro Cys Cys Ser

-160

-155

-150

aga ccc aag gtg gca gct ctc act ggc ggg acc ctg cta ctt ctg 332

Arg Pro Lys Val Ala Ala Leu Thr Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu

-145

-140

-135

73/158

aca gcc atc ggg gcg gca tcc tgg gcc att gtg gct gtt ctc ctc 377

Thr Ala Ile Gly Ala Ala Ser Trp Ala Ile Val Ala Val Leu Leu

-130

-125

-120

agg agt gac cag gag ccg ctg tac cca gtg cag gtc agc tct gcg 422

Arg Ser Asp Gln Glu Pro Leu Tyr Pro Val Gln Val Ser Ser Ala

-115

-110

-105

gac gct cgg ctc atg gtc ttt gac aag acg gaa ggg acg tgg cgg ctg 470

Asp Ala Arg Leu Met Val Phe Asp Lys Thr Glu Gly Thr Trp Arg Leu

-100

-95

-90

ctg tgc tcc tcg cgc tcc aac gcc agg gta gcc gga ctc agc tgc gag 518

Leu Cys Ser Ser Arg Ser Asn Ala Arg Val Ala Gly Leu Ser Cys Glu

-85

-80

-75

gag atg ggc ttc ctc agg gca ctg acc cac tcc gag ctg gac gtg cga 566

Glu Met Gly Phe Leu Arg Ala Leu Thr His Ser Glu Leu Asp Val Arg

-70

-65

-60

74/158

acg gcg ggc gcc aat ggc acg tcg ggc ttc ttc tgt gtg gac gag ggg 614

Thr Ala Gly Ala Asn Gly Thr Ser Gly Phe Phe Cys Val Asp Glu Gly

-55 -50 -45 -40

agg ctg ccc cac acc cag agg ctg ctg gag gtc atc tcc gtg tgt gat 662

Arg Leu Pro His Thr Gln Arg Leu Leu Glu Val Ile Ser Val Cys Asp

-35 -30 -25

tgc ccc aga ggc cgt ttc ttg gcc gcc atc tgc caa gac tgt ggc cgc 710

Cys Pro Arg Gly Arg Phe Leu Ala Ala Ile Cys Gln Asp Cys Gly Arg

-20 -15 -10

agg aag ctg ccc gtg gac cgc atc gtg gga ggc cgg gac acc agc ttg 758

Arg Lys Leu Pro Val Asp Arg Ile Val Gly Gly Arg Asp Thr Ser Leu

-5 -1 1 5

ggc cgg tgg ccg tgg caa gtc agc ctt cgc tat gat gga gca cac ctc 806

Gly Arg Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Tyr Asp Gly Ala His Leu

10 15 20 25

tgt ggg gga tcc ctg ctc tcc ggg gac tgg gtg ctg aca gcc gcc cac 854

75/158

Cys Gly Gly Ser Leu Leu Ser Gly Asp Trp Val Leu Thr Ala Ala His

30

35

40

tgc ttc ccg gag cgg aac cgg gtc ctg tcc cga tgg cga gtg ttt gcc 902

Cys Phe Pro Glu Arg Asn Arg Val Leu Ser Arg Trp Arg Val Phe Ala

45

50

55

ggt gcc gtg gcc cag gcc tct ccc cac ggt ctg cag ctg ggg gtg cag 950

Gly Ala Val Ala Gln Ala Ser Pro His Gly Leu Gln Leu Gly Val Gln

60

65

70

gct gtg gtc tac cac ggg ggc tat ctt ccc ttt cgg gac ccc aac agc 998

Ala Val Val Tyr His Gly Gly Tyr Leu Pro Phe Arg Asp Pro Asn Ser

75

80

85

gag gag aac agc aac gat att gcc ctg gtc cac ctc tcc agt ccc ctg 1046

Glu Glu Asn Ser Asn Asp Ile Ala Leu Val His Leu Ser Ser Pro Leu

90

95

100

105

ccc ctc aca gaa tac atc cag cct gtg tgc ctc cca gct gcc ggc cag 1094

Pro Leu Thr Glu Tyr Ile Gln Pro Val Cys Leu Pro Ala Ala Gly Gln

76/158

110	115	120	
gcc ctg gtg gat ggc aag atc tgt acc gtg acg ggc tgg ggc aac acg 1142			
Ala Leu Val Asp Gly Lys Ile Cys Thr Val Thr Gly Trp Gly Asn Thr			
125	130	135	
cag tac tat ggc caa cag gcc ggg gta ctc cag gag gct cga gtc ccc 1190			
Gln Tyr Tyr Gly Gln Gln Ala Gly Val Leu Gln Glu Ala Arg Val Pro			
140	145	150	
ata atc agc aat gat gtc tgc aat ggc gct gac ttc tat gga aac cag 1238			
Ile Ile Ser Asn Asp Val Cys Asn Gly Ala Asp Phe Tyr Gly Asn Gln			
155	160	165	
atc aag ccc aag atg ttc tgt gct ggc tac ccc gag ggt ggc att gat 1286			
Ile Lys Pro Lys Met Phe Cys Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Gly Ile Asp			
170	175	180	185
gcc tgc cag ggc gac agc ggt ggt ccc ttt gtg tgt gag gac agc atc 1334			
Ala Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Phe Val Cys Glu Asp Ser Ile			
190	195	200	

77/158

tct cgg acg cca cgt tgg cgg ctg tgt ggc att gtg agt tgg ggc act 1382

Ser Arg Thr Pro Arg Trp Arg Leu Cys Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr

205

210

215

ggc tgt gcc ctg gcc cag aag cca ggc gtc tac acc aaa gtc agt gac 1430

Gly Cys Ala Leu Ala Gln Lys Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val Ser Asp

220

225

230

ttc cgg gag tgg atc ttc cag gcc ata aag act cac tcc gaa gcc agc 1478

Phe Arg Glu Trp Ile Phe Gln Ala Ile Lys Thr His Ser Glu Ala Ser

235

240

245

ggc atg gtg acc cag ctc tgaccggtgg cttctcgtg cgcagcctcc 1526

Gly Met Val Thr Gln Leu

250

255

agggcccag gtgatcccgg tgggtgggata cacgctgggc cgaggatggg acgtttttct 1586

tcttgggccc ggtccacagg tccaaggaca ccctccctcc aggtcctct cttccacagt 1646

78/158

ggcggggccca ctcagccccg agaccaccca acctacacct cctgaccccc atgtaaatat 1706

tggttctgctg tctgggactc ctgtctaggt gcccctgatg atgggatgct ctttaaataa 1766

taaagatggt ttgatt 1783

<210> 14

<211> 417

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Met Ala Gln Lys Glu Gly Gly Arg Thr Val Pro Cys Cys Ser Arg

-160

-155

-150

Pro Lys Val Ala Ala Leu Thr Ala Gly Thr Leu Leu Leu Leu Thr

-145

-140

-135

79/158

Ala Ile Gly Ala Ala Ser Trp Ala Ile Val Ala Val Leu Leu Arg  
-130 -125 -120

Ser Asp Gln Glu Pro Leu Tyr Pro Val Gln Val Ser Ser Ala Asp  
-115 -110 -105

Ala Arg Leu Met Val Phe Asp Lys Thr Glu Gly Thr Trp Arg Leu Leu  
-100 -95 -90

Cys Ser Ser Arg Ser Asn Ala Arg Val Ala Gly Leu Ser Cys Glu Glu  
-85 -80 -75

Met Gly Phe Leu Arg Ala Leu Thr His Ser Glu Leu Asp Val Arg Thr  
-70 -65 -60 -55



80/158

Ala Gly Ala Asn Gly Thr Ser Gly Phe Phe Cys Val Asp Glu Gly Arg

-50

-45

-40

Leu Pro His Thr Gln Arg Leu Leu Glu Val Ile Ser Val Cys Asp Cys

-35

-30

-25

Pro Arg Gly Arg Phe Leu Ala Ala Ile Cys Gln Asp Cys Gly Arg Arg

-20

-15

-10

Lys Leu Pro Val Asp Arg Ile Val Gly Gly Arg Asp Thr Ser Leu Gly

-5

-1 1

5

10

Arg Trp Pro Trp Gln Val Ser Leu Arg Tyr Asp Gly Ala His Leu Cys

15

20

25

Gly Gly Ser Leu Leu Ser Gly Asp Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys

81/158

30

35

40

Phe Pro Glu Arg Asn Arg Val Leu Ser Arg Trp Arg Val Phe Ala Gly

45

50

55

Ala Val Ala Gln Ala Ser Pro His Gly Leu Gln Leu Gly Val Gln Ala

60

65

70

Val Val Tyr His Gly Gly Tyr Leu Pro Phe Arg Asp Pro Asn Ser Glu

75

80

85

90

Glu Asn Ser Asn Asp Ile Ala Leu Val His Leu Ser Ser Pro Leu Pro

95

100

105

Leu Thr Glu Tyr Ile Gln Pro Val Cys Leu Pro Ala Ala Gly Gln Ala

110

115

120

82/158

Leu Val Asp Gly Lys Ile Cys Thr Val Thr Gly Trp Gly Asn Thr Gln

125

130

135

Tyr Tyr Gly Gln Gln Ala Gly Val Leu Gln Glu Ala Arg Val Pro Ile

140

145

150

Ile Ser Asn Asp Val Cys Asn Gly Ala Asp Phe Tyr Gly Asn Gln Ile

155

160

165

170

Lys Pro Lys Met Phe Cys Ala Gly Tyr Pro Glu Gly Gly Ile Asp Ala

175

180

185

Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro Phe Val Cys Glu Asp Ser Ile Ser

190

195

200

83/158

Arg Thr Pro Arg Trp Arg Leu Cys Gly Ile Val Ser Trp Gly Thr Gly  
205 210 215

Cys Ala Leu Ala Gln Lys Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val Ser Asp Phe  
220 225 230

Arg Glu Trp Ile Phe Gln Ala Ile Lys Thr His Ser Glu Ala Ser Gly  
235 240 245 250

Met Val Thr Gln Leu  
255

<210> 15

<211> 1534

<212> DNA

<213> Homo sapiens

84/158

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (26).. (1324)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; sig\_peptide

&lt;222&gt; (26).. (100)

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; mat\_peptide

&lt;222&gt; (101).. (1324)

&lt;400&gt; 15

ggaattccct ggagcagagt tgaga atg gag aga atg tta cct ctc ctg gct 52

Met Glu Arg Met Leu Pro Leu Leu Ala

-25

-20

ctg ggg ctc ttg gcg gct ggg ttc tgc cct gct gtc ctc tgc cac cct 100

Leu Gly Leu Leu Ala Ala Gly Phe Cys Pro Ala Val Leu Cys His Pro

85/158

-15

-10

-5

-1

aac agc cca ctt gac gag gag aat ctg acc cag gag aac caa gac cga 148

Asn Ser Pro Leu Asp Glu Glu Asn Leu Thr Gln Glu Asn Gln Asp Arg

1

5

10

15

ggg aca cac gtg gac ctc gga tta gcc tcc gcc aac gtg gac ttc gct 196

Gly Thr His Val Asp Leu Gly Leu Ala Ser Ala Asn Val Asp Phe Ala

20

25

30

ttc agc ctg tac aag cag tta gtc ctg aag gcc ctt gat aag aat gtc 244

Phe Ser Leu Tyr Lys Gln Leu Val Leu Lys Ala Leu Asp Lys Asn Val

35

40

45

atc ttc tcc cca ctg agc atc tcc acc gcc ttg gcc ttc ctg tct ctg 292

Ile Phe Ser Pro Leu Ser Ile Ser Thr Ala Leu Ala Phe Leu Ser Leu

50

55

60

ggg gcc cat aat acc acc ctg aca gag att ctc aag gcc tcg agt tca 340

Gly Ala His Asn Thr Thr Leu Thr Glu Ile Leu Lys Ala Ser Ser Ser

65

70

75

80

86/158

cct cac gga gac tta ctg agg cag aaa ttc act cag agc ttc cag cac 388

Pro His Gly Asp Leu Leu Arg Gln Lys Phe Thr Gln Ser Phe Gln His

85

90

95

ctc cgc gca ccc tca atc agt tcc agc gat gag ctg cag ctg agt atg 436

Leu Arg Ala Pro Ser Ile Ser Ser Ser Asp Glu Leu Gln Leu Ser Met

100

105

110

gga aat gcc atg ttt gtc aaa gag caa ctc agt ctg ctg gac agg ttc 484

Gly Asn Ala Met Phe Val Lys Glu Gln Leu Ser Leu Leu Asp Arg Phe

115

120

125

acg gag gat gcc aag agg ctg tat ggc tcc gag gcc ttt gcc act gac 532

Thr Glu Asp Ala Lys Arg Leu Tyr Gly Ser Glu Ala Phe Ala Thr Asp

130

135

140

ttt cag gac tca gct gca gct aag aag ctc atc aac gac tac gtg aag 580

Phe Gln Asp Ser Ala Ala Ala Lys Lys Leu Ile Asn Asp Tyr Val Lys

145

150

155

160

87/158

aat gga act agg ggg aaa atc aca gat ctg atc aag gac ccc gac tcg 628

Asn Gly Thr Arg Gly Lys Ile Thr Asp Leu Ile Lys Asp Pro Asp Ser

165

170

175

cag aca atg atg gtc ctg gtg aat tac atc ttc ttt aaa gcc aaa tgg 676

Gln Thr Met Met Val Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Ala Lys Trp

180

185

190

gag atg ccc ttt gac ccc caa gat act cat cag tca agg ttc tac ttg 724

Glu Met Pro Phe Asp Pro Gln Asp Thr His Gln Ser Arg Phe Tyr Leu

195

200

205

agc aag aaa aag tgg gta atg gtg ccc atg atg agt ttg cat cac ctg 772

Ser Lys Lys Lys Trp Val Met Val Pro Met Met Ser Leu His His Leu

210

215

220

act ata cct tac ttc cgg gac gag gag ctg tcc tgc acc gtg gtg gag 820

Thr Ile Pro Tyr Phe Arg Asp Glu Glu Leu Ser Cys Thr Val Val Glu

225

230

235

240

ctg aag tac aca ggc aat gcc agc gca ctc ttc atc ctc cct gat caa 868



88/158

Leu Lys Tyr Thr Gly Asn Ala Ser Ala Leu Phe Ile Leu Pro Asp Gln

245

250

255

gac aag atg gag gaa gtg gaa gcc atg ctg ctc cca gag acc ctg aag 916

Asp Lys Met Glu Glu Val Glu Ala Met Leu Leu Pro Glu Thr Leu Lys

260

265

270

cgg tgg aga gac tct ctg gag ttc aga gag ata ggt gag ctc tac ctg 964

Arg Trp Arg Asp Ser Leu Glu Phe Arg Glu Ile Gly Glu Leu Tyr Leu

275

280

285

cca aag ttt tcc atc tcg agg gac tat aac ctg aac gac ata ctt ctc 1012

Pro Lys Phe Ser Ile Ser Arg Asp Tyr Asn Leu Asn Asp Ile Leu Leu

290

295

300

cag ctg ggc att gag gaa gcc ttc acc agc aag gct gac ctg tca ggg 1060

Gln Leu Gly Ile Glu Glu Ala Phe Thr Ser Lys Ala Asp Leu Ser Gly

305

310

315

320

atc aca ggg gcc agg aac cta gca gtc tcc cag gtg gtc cat aag gtc 1108

Ile Thr Gly Ala Arg Asn Leu Ala Val Ser Gln Val Val His Lys Val

89/158

325

330

335

gtg tct gat gta ttt gag gag ggc aca gaa gca tct gct gcc aca gca 1156

Val Ser Asp Val Phe Glu Glu Gly Thr Glu Ala Ser Ala Ala Thr Ala

340

345

350

gtc aaa atc acc ctc ctt tct gca tta gtg gag aca agg acc att gtg 1204

Val Lys Ile Thr Leu Leu Ser Ala Leu Val Glu Thr Arg Thr Ile Val

355

360

365

cgt ttc aac agg ccc ttc ctg atg atc att gtc cct aca gac acc cag 1252

Arg Phe Asn Arg Pro Phe Leu Met Ile Ile Val Pro Thr Asp Thr Gln

370

375

380

aac atc ttc ttc atg agc aaa gtc acc aat ccc agc aag cct aga gct 1300

Asn Ile Phe Phe Met Ser Lys Val Thr Asn Pro Ser Lys Pro Arg Ala

385

390

395

400

tgc atc aag cag tgg ggc tct cag taaggaactt ggaatgcaag ctggatgcct 1354

Cys Ile Lys Gln Trp Gly Ser Gln

405

90/158

gggtctctgg gcacagctgg cccctgtgca ccgtagtggc catggcatgt gtggccctgt 1414

ctgcttatcc ttggaagggtg acagcgattc cctgtgaagc tctcacacgc acagggggccc 1474

atggactctt cagtctggag ggtcctggcc tcctgacagc aataaataat ttcgttggcc 1534

<210> 16

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Glu Arg Met Leu Pro Leu Leu Ala Leu Gly Leu Leu Ala Ala Gly

-25

-20

-15

-10

Phe Cys Pro Ala Val Leu Cys His Pro Asn Ser Pro Leu Asp Glu Glu

-5

-1 1

5

91/158

Asn Leu Thr Gln Glu Asn Gln Asp Arg Gly Thr His Val Asp Leu Gly

10

15

20

Leu Ala Ser Ala Asn Val Asp Phe Ala Phe Ser Leu Tyr Lys Gln Leu

25

30

35

Val Leu Lys Ala Leu Asp Lys Asn Val Ile Phe Ser Pro Leu Ser Ile

40

45

50

55

Ser Thr Ala Leu Ala Phe Leu Ser Leu Gly Ala His Asn Thr Thr Leu

60

65

70

Thr Glu Ile Leu Lys Ala Ser Ser Ser Pro His Gly Asp Leu Leu Arg

75

80

85

92/158

Gln Lys Phe Thr Gln Ser Phe Gln His Leu Arg Ala Pro Ser Ile Ser

90

95

100

Ser Ser Asp Glu Leu Gln Leu Ser Met Gly Asn Ala Met Phe Val Lys

105

110

115

Glu Gln Leu Ser Leu Leu Asp Arg Phe Thr Glu Asp Ala Lys Arg Leu

120

125

130

135

Tyr Gly Ser Glu Ala Phe Ala Thr Asp Phe Gln Asp Ser Ala Ala Ala

140

145

150

Lys Lys Leu Ile Asn Asp Tyr Val Lys Asn Gly Thr Arg Gly Lys Ile

155

160

165

93/158

Thr Asp Leu Ile Lys Asp Pro Asp Ser Gln Thr Met Met Val Leu Val

170

175

180

Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Ala Lys Trp Glu Met Pro Phe Asp Pro Gln

185

190

195

Asp Thr His Gln Ser Arg Phe Tyr Leu Ser Lys Lys Lys Trp Val Met

200

205

210

215

Val Pro Met Met Ser Leu His His Leu Thr Ile Pro Tyr Phe Arg Asp

220

225

230

Glu Glu Leu Ser Cys Thr Val Val Glu Leu Lys Tyr Thr Gly Asn Ala

235

240

245

Ser Ala Leu Phe Ile Leu Pro Asp Gln Asp Lys Met Glu Glu Val Glu

94/158

250

255

260

Ala Met Leu Leu Pro Glu Thr Leu Lys Arg Trp Arg Asp Ser Leu Glu

265

270

275

Phe Arg Glu Ile Gly Glu Leu Tyr Leu Pro Lys Phe Ser Ile Ser Arg

280

285

290

295

Asp Tyr Asn Leu Asn Asp Ile Leu Leu Gln Leu Gly Ile Glu Glu Ala

300

305

310

Phe Thr Ser Lys Ala Asp Leu Ser Gly Ile Thr Gly Ala Arg Asn Leu

315

320

325

Ala Val Ser Gln Val Val His Lys Val Val Ser Asp Val Phe Glu Glu

330

335

340

95/158

Gly Thr Glu Ala Ser Ala Ala Thr Ala Val Lys Ile Thr Leu Leu Ser

345

350

355

Ala Leu Val Glu Thr Arg Thr Ile Val Arg Phe Asn Arg Pro Phe Leu

360

365

370

375

Met Ile Ile Val Pro Thr Asp Thr Gln Asn Ile Phe Phe Met Ser Lys

380

385

390

Val Thr Asn Pro Ser Lys Pro Arg Ala Cys Ile Lys Gln Trp Gly Ser

395

400

405

Gln



96/158

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 2008

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (222).. (857)

&lt;400&gt; 17

tgggacactg ctcaggggaag agcctgctac ggtggactgt gagactcagt gcactgtcct 60

cctcccagcg accccacgct ggaccccctg ccggaccctc cacccttcgg cccccaagct 120

tcccaggggc ttcctttgga ctggactgtc cctgtcctc cattctcctg ccacccccag 180

acctctcag ctccaggtg ccacctcctc tcgccagagt g atg agg tcc cgg ctt 236

Met Arg Ser Arg Leu

1

5

97/158

ctg ctc tcc gtg gcc cat ctg ccc aca att cgg gag acc acg gag gag 284

Leu Leu Ser Val Ala His Leu Pro Thr Ile Arg Glu Thr Thr Glu Glu

10

15

20

atg ctg ctt ggg ggt cct gga cag gag ccc cca ccc tct cct agc ctg 332

Met Leu Leu Gly Gly Pro Gly Gln Glu Pro Pro Pro Ser Pro Ser Leu

25

30

35

gat gac tac gtg agg tct ata tct cga ctg gca cag ccc acc tct gtg 380

Asp Asp Tyr Val Arg Ser Ile Ser Arg Leu Ala Gln Pro Thr Ser Val

40

45

50

ctg gac aag gcc acg gcc cag ggc caa ccc agg cca ccc cac agg cca 428

Leu Asp Lys Ala Thr Ala Gln Gly Gln Pro Arg Pro Pro His Arg Pro

55

60

65

gcc cag gcc tgc cgg aag ggc cgc cct gct gtg tcc ctg cga gac atc 476

Ala Gln Ala Cys Arg Lys Gly Arg Pro Ala Val Ser Leu Arg Asp Ile

70

75

80

85

98/158

acc gca cgt ttc agt ggc cag cag ccc aca ctg ccc atg gct gat act 524

Thr Ala Arg Phe Ser Gly Gln Gln Pro Thr Leu Pro Met Ala Asp Thr

90

95

100

gtg gac ccc ctg gac tgg ctt ttt ggg gag tcc cag gaa aag cag cca 572

Val Asp Pro Leu Asp Trp Leu Phe Gly Glu Ser Gln Glu Lys Gln Pro

105

110

115

agc cag agg gac ctg cca agg agg act ggc ccc tct gct ggc ctc tgg 620

Ser Gln Arg Asp Leu Pro Arg Arg Thr Gly Pro Ser Ala Gly Leu Trp

120

125

130

ggc cca cat aga cag atg gac agc agc aag ccc acg ggg gcc ccc aga 668

Gly Pro His Arg Gln Met Asp Ser Ser Lys Pro Thr Gly Ala Pro Arg

135

140

145

ggg agg ctc tgt gaa gcc agg atg cct ggg cat tcc ctg gca aga cca 716

Gly Arg Leu Cys Glu Ala Arg Met Pro Gly His Ser Leu Ala Arg Pro

150

155

160

165

ccg cag gat ggg cag cag agc tct gac cta aga agc tgg act ttt ggg 764

99/158

Pro Gln Asp Gly Gln Gln Ser Ser Asp Leu Arg Ser Trp Thr Phe Gly

170

175

180

cag tct gcc caa gcc atg gcc tcc cgc cac cgc ccc cgc ccc agc agt 812

Gln Ser Ala Gln Ala Met Ala Ser Arg His Arg Pro Arg Pro Ser Ser

185

190

195

gtc ctc aga aca ctc tac tcg cac ctc ccg gtg atc cat gaa ctc 857

Val Leu Arg Thr Leu Tyr Ser His Leu Pro Val Ile His Glu Leu

200

205

210

tgaccctcc ccagtaaagg cttctgtaga gagcatgctg ggtctgcatc tcctctcgtc 917

tcctccatgg tggtcactgc ccctggcagg tctctgaaag ggaaatgctt ttctgcggag 977

gcccctgctt gggcagttca cagtgaagacc gacccctct gaatatgata acagcctgtt 1037

tcacatgagg agatgttacc aatcccgttc gctctgaccc ttgctggctg atcaccttga 1097

gcaacttact taacatctgt gttcctcagt ttctcatggg taatataggg ataattactg 1157

100/158

gcacctgcct cccaggccat tctgacgtgt aaccgcataat aggagcccac tggctgagta 1217

gctaccatca tcgctgggtg ggaaactggt ggtaggggtg tgagggtagt gggggtgtca 1277

gccccccagg tgtttcagaa caaggcctcg ggcactccca agtctgcctc ttggctccca 1337

ccctcaaagc ccatgttctg cgaggcccaa gagaacacat ggagtcttag caaatgcact 1397

aatgtattcc gggggactgt cacctggcac cactggggca ctctgctggc tacaactcat 1457

acgtcctgtg gtggcattgg gagagttccc ccatgatgag ggccaagata gaatctgtac 1517

cactcagtgc taccatcccc acccctacac cacttccaca caggggcctc atggcatggt 1577

cagggtccca gctgtaggtg agagcagggc actgtccagc tgtccactgg ggaagtcaag 1637

atgtcctaag gcccaggtca gggcatctgg agtctgaagg accctagttc ctagaggcat 1697

ctggcagcaa gaaggtgagg catcagggaa cggaatcag gctgggactg atcagaggtg 1757

aaggacaga gagaggagag gaggaagatt gagctggggg caacagccaa gctcacctgg 1817

101/158

gcaggtctct gccacctcct tgctctgtga gctgtcagtc taggttattc tctttttttg 1877

tggctatattt taattgcttt ggatttgtaa aatgttttct gtcttctgtt aagtgtgttt 1937

tctctggaga tagaatgtaa accatattaa aaggaaaaag tttcagacaa gcaaaaaaaaa 1997

aaaaaaaaaa a 2008

<210> 18

<211> 212

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Met Arg Ser Arg Leu Leu Leu Ser Val Ala His Leu Pro Thr Ile Arg

1

5

10

15

102/158

Glu Thr Thr Glu Glu Met Leu Leu Gly Gly Pro Gly Gln Glu Pro Pro

20

25

30

Pro Ser Pro Ser Leu Asp Asp Tyr Val Arg Ser Ile Ser Arg Leu Ala

35

40

45

Gln Pro Thr Ser Val Leu Asp Lys Ala Thr Ala Gln Gly Gln Pro Arg

50

55

60

Pro Pro His Arg Pro Ala Gln Ala Cys Arg Lys Gly Arg Pro Ala Val

65

70

75

80

Ser Leu Arg Asp Ile Thr Ala Arg Phe Ser Gly Gln Gln Pro Thr Leu

85

90

95

Pro Met Ala Asp Thr Val Asp Pro Leu Asp Trp Leu Phe Gly Glu Ser

103/158

100

105

110

Gln Glu Lys Gln Pro Ser Gln Arg Asp Leu Pro Arg Arg Thr Gly Pro

115

120

125

Ser Ala Gly Leu Trp Gly Pro His Arg Gln Met Asp Ser Ser Lys Pro

130

135

140

Thr Gly Ala Pro Arg Gly Arg Leu Cys Glu Ala Arg Met Pro Gly His

145

150

155

160

Ser Leu Ala Arg Pro Pro Gln Asp Gly Gln Gln Ser Ser Asp Leu Arg

165

170

175

Ser Trp Thr Phe Gly Gln Ser Ala Gln Ala Met Ala Ser Arg His Arg

180

185

190



104/158

Pro Arg Pro Ser Ser Val Leu Arg Thr Leu Tyr Ser His Leu Pro Val

195

200

205

Ile His Glu Leu

210

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 1649

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (367)..(1068)

&lt;400&gt; 19

105/158

agcgagcggg gccagcgctg cagaaggcgg cggctggctc tccgggacgg tcacatcccg 60

ctgcaggggc gggcggaggc cgccgcactg cctccgcac cggggacca gccagcgtc 120

cgggcaacgc cccctgctcc cggacagact ccgtggcccg ctcgagccct gggggctccg 180

cagaccgcg ccgctccgc ccgcagctcg gcccgcgct gcccgcgtcg ccgggccgcg 240

gccgggatgg ggtaggggca gcgccaccga gtcgggcgat gggccgccct ctgggcaccg 300

agcagcccc cgaggcctga ccaaccgcga ggaccggcgg aggagccccg cctggatgtc 360

aagcgg atg cca agc gga tgc cac agt tcc ccc ccc agc gga ctc cgt 408

Met Pro Ser Gly Cys His Ser Ser Pro Pro Ser Gly Leu Arg

1

5

10

ggg gac atg gct tcg ctg gtg ccc ctt tcc cca tat cta agc ccc acg 456

Gly Asp Met Ala Ser Leu Val Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Ser Pro Thr

15

20

25

30

gtc ctc ctg ctg gtc agc tgt gac ctg ggc ttc gtg cga gca gac cgg 504

106/158

Val Leu Leu Leu Val Ser Cys Asp Leu Gly Phe Val Arg Ala Asp Arg

35

40

45

cct ccc tct cct gtg aat gtg acg gtc act cac ctc aga gcc aac tcg 552

Pro Pro Ser Pro Val Asn Val Thr Val Thr His Leu Arg Ala Asn Ser

50

55

60

gcc act gtg tcc tgg gac gtc cca gaa ggc aac atc gtc att ggc tac 600

Ala Thr Val Ser Trp Asp Val Pro Glu Gly Asn Ile Val Ile Gly Tyr

65

70

75

tcc att tcc cag caa cgg cag aat ggc ccc ggg cag cgt gtg att cgg 648

Ser Ile Ser Gln Gln Arg Gln Asn Gly Pro Gly Gln Arg Val Ile Arg

80

85

90

gag gtg aac acc acc acc cgg gcc tgt gcc ctc tgg ggc ctg gct gaa 696

Glu Val Asn Thr Thr Thr Arg Ala Cys Ala Leu Trp Gly Leu Ala Glu

95

100

105

110

gac agt gac tac aca gtg cag gtc agg agc atc ggc ctt cgg gga gag 744

Asp Ser Asp Tyr Thr Val Gln Val Arg Ser Ile Gly Leu Arg Gly Glu

107/158

115	120	125	
agt ccc cca ggg ccc cgg gtg cac ttc cga act ctc aag ggt tct gac 792			
Ser Pro Pro Gly Pro Arg Val His Phe Arg Thr Leu Lys Gly Ser Asp			
130	135	140	
cgg cta cct tca aac agt tca agc cca ggt gac atc aca gtg gaa ggt 840			
Arg Leu Pro Ser Asn Ser Ser Ser Pro Gly Asp Ile Thr Val Glu Gly			
145	150	155	
ctg gat gga gag cgg cca ctg cag act ggg gaa gtg gtc atc att gtg 888			
Leu Asp Gly Glu Arg Pro Leu Gln Thr Gly Glu Val Val Ile Ile Val			
160	165	170	
gtg gtg ttg ctc atg tgg gct gct gta att ggg ctg ttc tgc cgt cag 936			
Val Val Leu Leu Met Trp Ala Ala Val Ile Gly Leu Phe Cys Arg Gln			
175	180	185	190
tat gac atc atc aag gac aat gac tcc aac aac aat ccc aag gag aag 984			
Tyr Asp Ile Ile Lys Asp Asn Asp Ser Asn Asn Asn Pro Lys Glu Lys			
195	200	205	

108/158

gga aag ggg ccg gaa cag agt cct cag gga agg cca gtg ggg aca aga 1032

Gly Lys Gly Pro Glu Gln Ser Pro Gln Gly Arg Pro Val Gly Thr Arg

210

215

220

cag aaa aag tca cca tct atc aac acc atc gac gtt tgagtgaaga 1078

Gln Lys Lys Ser Pro Ser Ile Asn Thr Ile Asp Val

225

230

aacacaccca gaagagagat gcactaaca ctggggatag ggatggggtc agggggagcc 1138

caagatgggtg atctgcccga gactcccaga gggtaatgcc actcccacaa tctcaggcct 1198

ggtacccatc ctctttccac tgtgagcaga gccagaaggt aggtctgttc agagtctgtg 1258

cccctggacc tggggagtgg atatcagatg ggatatctcc ttccattccc cgggccaggg 1318

gagagtcact agttgtaccc tactccatta ggtcccaa at gggggcccca tttcacctgt 1378

atcaggactc tgagcatccc cagctgcccc acatcttgcc tctggccctc agagaggggt 1438

109/158

gtttctgtgg gtactcctct tacccagca aataaaagga attgtctgac cctagaggca 1498

gatgctgcac tgcactactc caatgtcttc catggagcct caggtgctcc ccctctcacc 1558

tggcagcccc ttcagctgct agtgatatca cttgttggac atttttccaa taaaggttct 1618

tggacaaact ggaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 1649

<210> 20

<211> 234

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Met Pro Ser Gly Cys His Ser Ser Pro Pro Ser Gly Leu Arg Gly Asp

1

5

10

15

Met Ala Ser Leu Val Pro Leu Ser Pro Tyr Leu Ser Pro Thr Val Leu

110/158

20

25

30

Leu Leu Val Ser Cys Asp Leu Gly Phe Val Arg Ala Asp Arg Pro Pro

35

40

45

Ser Pro Val Asn Val Thr Val Thr His Leu Arg Ala Asn Ser Ala Thr

50

55

60

Val Ser Trp Asp Val Pro Glu Gly Asn Ile Val Ile Gly Tyr Ser Ile

65

70

75

80

Ser Gln Gln Arg Gln Asn Gly Pro Gly Gln Arg Val Ile Arg Glu Val

85

90

95

Asn Thr Thr Thr Arg Ala Cys Ala Leu Trp Gly Leu Ala Glu Asp Ser

100

105

110

111/158

Asp Tyr Thr Val Gln Val Arg Ser Ile Gly Leu Arg Gly Glu Ser Pro

115

120

125

Pro Gly Pro Arg Val His Phe Arg Thr Leu Lys Gly Ser Asp Arg Leu

130

135

140

Pro Ser Asn Ser Ser Ser Pro Gly Asp Ile Thr Val Glu Gly Leu Asp

145

150

155

160

Gly Glu Arg Pro Leu Gln Thr Gly Glu Val Val Ile Ile Val Val Val

165

170

175

Leu Leu Met Trp Ala Ala Val Ile Gly Leu Phe Cys Arg Gln Tyr Asp

180

185

190



112/158

Ile Ile Lys Asp Asn Asp Ser Asn Asn Asn Pro Lys Glu Lys Gly Lys

195

200

205

Gly Pro Glu Gln Ser Pro Gln Gly Arg Pro Val Gly Thr Arg Gln Lys

210

215

220

Lys Ser Pro Ser Ile Asn Thr Ile Asp Val

225

230

&lt;210&gt; 21

&lt;211&gt; 3915

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

113/158

&lt;222&gt; (243).. (1730)

&lt;400&gt; 21

gtggggtggg gtggggctgg gggcttgtcg ccctttcagg ctccaccctt tgcggagatt 60

ataaatagtc atgatcccag cgagaccag agatgcctgt aatggtgaga ctttgatcc 120

ttcctgagga cgtggagaaa actttctgct gagaaggaca ttttgaaggt tttgttgct 180

gaaaaagctg ttcttggaat caccctaga tctttcttga agacttgaat tagattacag 240

cg atg ggg aca cag aag gtc acc cca gct ctg ata ttt gcc atc aca 287

Met Gly Thr Gln Lys Val Thr Pro Ala Leu Ile Phe Ala Ile Thr

1 5 10 15

gtt gct aca atc ggc tct ttc caa ttt ggc tac aac act ggg gtc atc 335

Val Ala Thr Ile Gly Ser Phe Gln Phe Gly Tyr Asn Thr Gly Val Ile

20 25 30

aat gct cct gag aag atc ata aag gaa ttt atc aat aaa act ttg acg 383

Asn Ala Pro Glu Lys Ile Ile Lys Glu Phe Ile Asn Lys Thr Leu Thr

114/158

35

40

45

gac aag gga aat gcc cca ccc tct gag gtg ctg ctc acg tct ctc tgg 431

Asp Lys Gly Asn Ala Pro Pro Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Leu Trp

50

55

60

tcc ttg tct gtg gcc ata ttt tcc gtc ggg ggt atg atc ggc tcc ttt 479

Ser Leu Ser Val Ala Ile Phe Ser Val Gly Gly Met Ile Gly Ser Phe

65

70

75

tcc gtc gga ctc ttc gtc aac cgc ttt ggc agg cgc aat tca atg ctg 527

Ser Val Gly Leu Phe Val Asn Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser Met Leu

80

85

90

95

att gtc aac ctg ttg gct gtc act ggt ggc tgc ttt atg gga ctg tgt 575

Ile Val Asn Leu Leu Ala Val Thr Gly Gly Cys Phe Met Gly Leu Cys

100

105

110

aaa gta gct aag tcg gtt gaa atg ctg atc ctg ggt cgc ttg gtt att 623

Lys Val Ala Lys Ser Val Glu Met Leu Ile Leu Gly Arg Leu Val Ile

115

120

125

115/158

ggc ctc ttc tgc gga ctc tgc aca ggt ttt gtg ccc atg tac att gga 671

Gly Leu Phe Cys Gly Leu Cys Thr Gly Phe Val Pro Met Tyr Ile Gly

130

135

140

gag atc tcg cct act gcc ctg cgg ggt gcc ttt ggc act ctc aac cag 719

Glu Ile Ser Pro Thr Ala Leu Arg Gly Ala Phe Gly Thr Leu Asn Gln

145

150

155

ctg ggc atc gtt gtt gga att ctg gtg gcc cag atc ttt ggt ctg gaa 767

Leu Gly Ile Val Val Gly Ile Leu Val Ala Gln Ile Phe Gly Leu Glu

160

165

170

175

ttc atc ctt ggg tct gaa gag cta tgg ccg ctg cta ctg ggt ttt acc 815

Phe Ile Leu Gly Ser Glu Glu Leu Trp Pro Leu Leu Leu Gly Phe Thr

180

185

190

atc ctt cct gct atc cta caa agt gca gcc ctt cca ttt tgc cct gaa 863

Ile Leu Pro Ala Ile Leu Gln Ser Ala Ala Leu Pro Phe Cys Pro Glu

195

200

205

116/158

agt ccc aga ttt ttg ctc att aac aga aaa gaa gag gag aat gct aag 911

Ser Pro Arg Phe Leu Leu Ile Asn Arg Lys Glu Glu Glu Asn Ala Lys

210

215

220

cag atc ctc cag cgg ttg tgg ggc acc cag gat gta tcc caa gac atc 959

Gln Ile Leu Gln Arg Leu Trp Gly Thr Gln Asp Val Ser Gln Asp Ile

225

230

235

cag gag atg aaa gat gag agt gca agg atg tca caa gaa aag caa gtc 1007

Gln Glu Met Lys Asp Glu Ser Ala Arg Met Ser Gln Glu Lys Gln Val

240

245

250

255

acc gtg cta gag ctc ttt aga gtg tcc agc tac cga cag ccc atc atc 1055

Thr Val Leu Glu Leu Phe Arg Val Ser Ser Tyr Arg Gln Pro Ile Ile

260

265

270

att tcc att gtg ctc cag ctc tct cag cag ctc tct ggg atc aat gct 1103

Ile Ser Ile Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn Ala

275

280

285

gtg ttc tat tac tca aca gga atc ttc aag gat gca ggt gtt caa gag 1151

117/158

Val Phe Tyr Tyr Ser Thr Gly Ile Phe Lys Asp Ala Gly Val Gln Glu

290

295

300

ccc atc tat gcc acc atc ggc gcg ggt gtg gtt aat act atc ttc act 1199

Pro Ile Tyr Ala Thr Ile Gly Ala Gly Val Val Asn Thr Ile Phe Thr

305

310

315

gta gtt tct cta ttt ctg gtg gaa agg gca gga aga agg act ctg cat 1247

Val Val Ser Leu Phe Leu Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu His

320

325

330

335

atg ata ggc ctt gga ggg atg gct ttt tgt tcc acg ctc atg act gtt 1295

Met Ile Gly Leu Gly Gly Met Ala Phe Cys Ser Thr Leu Met Thr Val

340

345

350

tct ttg tta tta aag gat aac tat aat ggg atg agc ttt gtc tgt att 1343

Ser Leu Leu Leu Lys Asp Asn Tyr Asn Gly Met Ser Phe Val Cys Ile

355

360

365

ggg gct atc ttg gtc ttt gta gcc ttc ttt gaa att gga cca ggc ccc 1391

Gly Ala Ile Leu Val Phe Val Ala Phe Phe Glu Ile Gly Pro Gly Pro

118/158

370	375	380	
att ccc tgg ttt att gtg gcc gaa ctc ttc agc cag ggc ccc cgc cca 1439			
Ile Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg Pro			
385	390	395	
gct gcg atg gca gtg gcc ggc tgc tcc aac tgg acc tcc aac ttc cta 1487			
Ala Ala Met Ala Val Ala Gly Cys Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe Leu			
400	405	410	415
gtc gga ttg ctc ttc ccc tcc gct gct cac tat tta gga gcc tac gtt 1535			
Val Gly Leu Leu Phe Pro Ser Ala Ala His Tyr Leu Gly Ala Tyr Val			
420	425	430	
ttt att atc ttc acc ggc ttc ctc att acc ttc ttg gct ttt acc ttc 1583			
Phe Ile Ile Phe Thr Gly Phe Leu Ile Thr Phe Leu Ala Phe Thr Phe			
435	440	445	
ttc aaa gtc cct gag acc cgt ggc agg act ttt gag gat atc aca cgg 1631			
Phe Lys Val Pro Glu Thr Arg Gly Arg Thr Phe Glu Asp Ile Thr Arg			
450	455	460	

119/158

gcc ttt gaa ggg cag gca cac ggt gca gat aga tct gga aag gac ggc 1679

Ala Phe Glu Gly Gln Ala His Gly Ala Asp Arg Ser Gly Lys Asp Gly

465

470

475

gtc atg gag atg aac agc atc gag cct gct aag gag acc acc acc aat 1727

Val Met Glu Met Asn Ser Ile Glu Pro Ala Lys Glu Thr Thr Thr Asn

480

485

490

495

gtc taagtcgtgc ctccttccac ctccctcccg gcatgggaaa gccacctctc 1780

Val

cctcaacaag ggagagacct catcaggatg aaccaggac gcttctgaat gctgctactt 1840

aattcctttc tcatccaacg cactccatga gcacccaag gctgcggttt gttggatctt 1900

caatggcttt ttaaatttta tttcctggac atcctcttct gcttaggaga gaccgagtga 1960

acctaccttc atttcaggag ggattggccg cttggcacat gacaactttg ccagcttttc 2020



120/158

ctcccttggg ttctgatatt gcgcactag gggatatagg agaggaaaag taaggtgcag 2080

ttccccaac ctcagactta ccaggaagca gatacatatg agtgtggaag ccggagggtg 2140

tttatgtaag agcaccttcc tcaattccat acagctctac gtggcaaatt aacttgagtt 2200

ttattttatt tctctctgg ttttaattaca taattttttt ttttttactt taagtttcag 2260

gatacatgtg ccgaatgtgc aggtttgtta cataggtata tataatgcat gatggaaata 2320

tttatttttt taagcgtaat tttgccaat aataaaaaca gaaggaaatt gagattagag 2380

ggaggtgttt aaagagaggt tatagagtag aagatttgat gctggagagg ttaaggtgca 2440

ataagaattt agggagaaat gttgttcatt attggagggt aaatgatgtg gtgcctgagg 2500

tctgtacgtt acctottaac aatttctgtc cttcagatgg aaactcttta acttctcgta 2560

aaagtcatat acctatataa taaagctact gatttccttg gagctttttt cttaagata 2620

atagtttaca thtagtagta cttgaaatct aggattatta actaatatgg gcattgtagt 2680

121/158

taatgatggt tgatgggttc taattttgga tggagtccag ggaagagaaa gtgatttcta 2740

gaaagcctgt tccccctact ggatgaaata actccttctt gtagtagtct cattactttt 2800

gaagtaatcc cgccacctat ctctgtgggag agccatccaa ataagaaacc taaaataatt 2860

ggttcttggt agagattcat tatttttcca ctttgttctt taggagattt taggtgttga 2920

ttttctgttg tattttaact cataccttta aaggaattcc ccaaagaatg tttatagcaa 2980

acttgaatt tgtaacctca gctctgggag aggatTTTT tctgagcgat tattatctaa 3040

agtgtgttgt tgcttttaggc tcacggcacg cttgcgtatg tctgttacca tgtcactgtg 3100

gtcctatgcc gaatgccctc aggggacttg aatctttcca ataaaccagg tttagacagt 3160

atgagtcaat gtgcagtga gcccacactt gagaggatga atgtatgtgc actgtcactt 3220

tgctctgggt ggaagtacgt tattgttgac ttattttctc tgtgtttgtt cctacagccc 3280

122/158

ctttttcata tgttgctcag tctccctttc ctttcttggt gcttacacat ctcagaccct 3340

ttagccaaac cttgtgcagt gacagtattt tggttcttag ttctcactgt tccctctgct 3400

cctggagcct ttgaataaaa atgcacgtag ctgaggccgg atgcggtggc tcacgcctgt 3460

aatcccagca ctttgggagg cctaggcggg cggtcagggg ttcgagacca gtctggccaa 3520

catcgtgaaa ccctgtctct actaaaaatg caaaaattag ccgggcgtgg tggcgggcgc 3580

ctgtaatccc agctacttgg gaagctgagg cgggagaatc atgtgaaccg gggacgcagg 3640

ggttgccagt agcggagatc gcatcattgc actctagcct gggccacagg gcgagactcc 3700

gtctcaaaaa aaaaaaatg cacatagcta tcgagtgtgc tttagcttga aaaggtgacc 3760

ttgcaacttc atgtcaactt tctggctcct caaacagtag gttggcagta aggcagggtc 3820

ccatttctca ctgagaagat tgtgaatatt tccatatgga ttttctattg ttactctggt 3880

tctttgtttt aaaataaaaa ttctgaatgt acacg 3915

123/158

&lt;210&gt; 22

&lt;211&gt; 496

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 22

Met Gly Thr Gln Lys Val Thr Pro Ala Leu Ile Phe Ala Ile Thr Val

1

5

10

15

Ala Thr Ile Gly Ser Phe Gln Phe Gly Tyr Asn Thr Gly Val Ile Asn

20

25

30

Ala Pro Glu Lys Ile Ile Lys Glu Phe Ile Asn Lys Thr Leu Thr Asp

35

40

45

124/158

Lys Gly Asn Ala Pro Pro Ser Glu Val Leu Leu Thr Ser Leu Trp Ser

50

55

60

Leu Ser Val Ala Ile Phe Ser Val Gly Gly Met Ile Gly Ser Phe Ser

65

70

75

80

Val Gly Leu Phe Val Asn Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser Met Leu Ile

85

90

95

Val Asn Leu Leu Ala Val Thr Gly Gly Cys Phe Met Gly Leu Cys Lys

100

105

110

Val Ala Lys Ser Val Glu Met Leu Ile Leu Gly Arg Leu Val Ile Gly

115

120

125

Leu Phe Cys Gly Leu Cys Thr Gly Phe Val Pro Met Tyr Ile Gly Glu

125/158

130

135

140

Ile Ser Pro Thr Ala Leu Arg Gly Ala Phe Gly Thr Leu Asn Gln Leu

145

150

155

160

Gly Ile Val Val Gly Ile Leu Val Ala Gln Ile Phe Gly Leu Glu Phe

165

170

175

Ile Leu Gly Ser Glu Glu Leu Trp Pro Leu Leu Leu Gly Phe Thr Ile

180

185

190

Leu Pro Ala Ile Leu Gln Ser Ala Ala Leu Pro Phe Cys Pro Glu Ser

195

200

205

Pro Arg Phe Leu Leu Ile Asn Arg Lys Glu Glu Glu Asn Ala Lys Gln

210

215

220

126/158

Ile Leu Gln Arg Leu Trp Gly Thr Gln Asp Val Ser Gln Asp Ile Gln

225

230

235

240

Glu Met Lys Asp Glu Ser Ala Arg Met Ser Gln Glu Lys Gln Val Thr

245

250

255

Val Leu Glu Leu Phe Arg Val Ser Ser Tyr Arg Gln Pro Ile Ile Ile

260

265

270

Ser Ile Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn Ala Val

275

280

285

Phe Tyr Tyr Ser Thr Gly Ile Phe Lys Asp Ala Gly Val Gln Glu Pro

290

295

300

127/158

Ile Tyr Ala Thr Ile Gly Ala Gly Val Val Asn Thr Ile Phe Thr Val

305

310

315

320

Val Ser Leu Phe Leu Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu His Met

325

330

335

Ile Gly Leu Gly Gly Met Ala Phe Cys Ser Thr Leu Met Thr Val Ser

340

345

350

Leu Leu Leu Lys Asp Asn Tyr Asn Gly Met Ser Phe Val Cys Ile Gly

355

360

365

Ala Ile Leu Val Phe Val Ala Phe Phe Glu Ile Gly Pro Gly Pro Ile

370

375

380



128/158

Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg Pro Ala

385

390

395

400

Ala Met Ala Val Ala Gly Cys Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe Leu Val

405

410

415

Gly Leu Leu Phe Pro Ser Ala Ala His Tyr Leu Gly Ala Tyr Val Phe

420

425

430

Ile Ile Phe Thr Gly Phe Leu Ile Thr Phe Leu Ala Phe Thr Phe Phe

435

440

445

Lys Val Pro Glu Thr Arg Gly Arg Thr Phe Glu Asp Ile Thr Arg Ala

450

455

460

Phe Glu Gly Gln Ala His Gly Ala Asp Arg Ser Gly Lys Asp Gly Val

129/158

465

470

475

480

Met Glu Met Asn Ser Ile Glu Pro Ala Lys Glu Thr Thr Thr Asn Val

485

490

495

&lt;210&gt; 23

&lt;211&gt; 1085

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (76)..(678)

&lt;400&gt; 23

atcctgtctg tccgaaccca gacacaagtc ttcactcctt cctgcgagcc ctgaggaagc 60

cttcttttccc cagac atg gcc aac aag ggt cct tcc tat ggc atg agc cgc 111

130/158

Met Ala Asn Lys Gly Pro Ser Tyr Gly Met Ser Arg

1

5

10

gaa gtg cag tcc aaa atc gag aag aag tat gac gag gag ctg gag gag 159

Glu Val Gln Ser Lys Ile Glu Lys Lys Tyr Asp Glu Glu Leu Glu Glu

15

20

25

cgg ctg gtg gag tgg atc ata gtg cag tgt ggc cct gat gtg ggc cgc 207

Arg Leu Val Glu Trp Ile Ile Val Gln Cys Gly Pro Asp Val Gly Arg

30

35

40

cca gac cgt ggg ccc ttg ggc ttc cag gtg tgg ctg aag aat ggc gtg 255

Pro Asp Arg Gly Pro Leu Gly Phe Gln Val Trp Leu Lys Asn Gly Val

45

50

55

60

att ctg agc aag ctg gtg aac agc ctg tac cct gat ggc tcc aag ccg 303

Ile Leu Ser Lys Leu Val Asn Ser Leu Tyr Pro Asp Gly Ser Lys Pro

65

70

75

gtg aag gtg ccc gag aac cca ccc tcc atg gtc ttc aag cag atg gag 351

Val Lys Val Pro Glu Asn Pro Pro Ser Met Val Phe Lys Gln Met Glu

131/158

80

85

90

cag gtg gct cag ttc ctg aag gcg gct gag gac tct ggg gtc atc aag 399

Gln Val Ala Gln Phe Leu Lys Ala Ala Glu Asp Ser Gly Val Ile Lys

95

100

105

act gac atg ttc cag act gtt gac ctc ttt gaa ggc aaa gac atg gca 447

Thr Asp Met Phe Gln Thr Val Asp Leu Phe Glu Gly Lys Asp Met Ala

110

115

120

gca gtg cag agg acc ctg atg gct ttg ggc agc ttg gca gtg acc aag 495

Ala Val Gln Arg Thr Leu Met Ala Leu Gly Ser Leu Ala Val Thr Lys

125

130

135

140

aat gat ggg cac tac cgt gga gat ccc aac tgg ttt atg aag aaa gcg 543

Asn Asp Gly His Tyr Arg Gly Asp Pro Asn Trp Phe Met Lys Lys Ala

145

150

155

cag gag cat aag agg gaa ttc aca gag agc cag ctg cag gag gga aag 591

Gln Glu His Lys Arg Glu Phe Thr Glu Ser Gln Leu Gln Glu Gly Lys

160

165

170

132/158

cat gtc att ggc ctt cag atg ggc agc aac aga ggg gcc tcc cag gcc 639

His Val Ile Gly Leu Gln Met Gly Ser Asn Arg Gly Ala Ser Gln Ala

175

180

185

ggc atg aca ggc tac gga cga cct cgg cag atc atc agt tagagcggag 688

Gly Met Thr Gly Tyr Gly Arg Pro Arg Gln Ile Ile Ser

190

195

200

agggctagcc ctgagcccgg cgctcccca gctccttggc tgcagccatc ccgcttagcc 748

tgcctcacc acaccgtgt ggtaccttca gccctggcca agctttgagg ctctgtcact 808

gagcaatggt aactgcacct gggcagctcc tccctgtgcc cccagcctca gcccaacttc 868

ttacccgaaa gcatcactgc ctgggccct ccctcccggc ggcccccatc acctctactg 928

tctcctccct gggctaagca ggggagaagc gggctggggg tagcctggat gtgggcgaag 988

tccactgtcc tccttggcgg caaaagccca ttgaagaaga accagcccag cctgccccct 1048

133/158

atcttgtagc tggaatattt ttgggggttg aactctc

1085

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 201

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 24

Met Ala Asn Lys Gly Pro Ser Tyr Gly Met Ser Arg Glu Val Gln Ser

1

5

10

15

Lys Ile Glu Lys Lys Tyr Asp Glu Glu Leu Glu Glu Arg Leu Val Glu

20

25

30

Trp Ile Ile Val Gln Cys Gly Pro Asp Val Gly Arg Pro Asp Arg Gly

35

40

45

134/158

Pro Leu Gly Phe Gln Val Trp Leu Lys Asn Gly Val Ile Leu Ser Lys

50

55

60

Leu Val Asn Ser Leu Tyr Pro Asp Gly Ser Lys Pro Val Lys Val Pro

65

70

75

80

Glu Asn Pro Pro Ser Met Val Phe Lys Gln Met Glu Gln Val Ala Gln

85

90

95

Phe Leu Lys Ala Ala Glu Asp Ser Gly Val Ile Lys Thr Asp Met Phe

100

105

110

Gln Thr Val Asp Leu Phe Glu Gly Lys Asp Met Ala Ala Val Gln Arg

115

120

125

135/158

Thr Leu Met Ala Leu Gly Ser Leu Ala Val Thr Lys Asn Asp Gly His

130

135

140

Tyr Arg Gly Asp Pro Asn Trp Phe Met Lys Lys Ala Gln Glu His Lys

145

150

155

160

Arg Glu Phe Thr Glu Ser Gln Leu Gln Glu Gly Lys His Val Ile Gly

165

170

175

Leu Gln Met Gly Ser Asn Arg Gly Ala Ser Gln Ala Gly Met Thr Gly

180

185

190

Tyr Gly Arg Pro Arg Gln Ile Ile Ser

195

200



136/158

&lt;211&gt; 30

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying kiaal001  
gene transcript.

&lt;400&gt; 25

ggaacatctc tttgaattgt atttcttgta

30

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying kiaal001  
gene transcript.

137/158

&lt;400&gt; 26

agccacagcc aaaaaagact tt

22

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 32

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of kiaal001 gene transcript.

&lt;400&gt; 27

ttacatactt agagagagac tcttttagcc ag

32

&lt;210&gt; 28

&lt;211&gt; 28

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

138/158

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying asah1  
gene transcript.

&lt;400&gt; 28

accctaagga agttgctaac ttaaaaaa

28

&lt;210&gt; 29

&lt;211&gt; 29

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying asah1  
gene transcript.

&lt;400&gt; 29

tccacaagtc ttgacttgt ttatttact

29

139/158

&lt;210&gt; 30

&lt;211&gt; 23

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of asah1 gene transcript.

&lt;400&gt; 30

ctgcatccca cgttctgtta att

23

&lt;210&gt; 31

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying mgc4171

140/158

gene transcript.

&lt;400&gt; 31

caggtggtct tttggtgcct ta

22

&lt;210&gt; 32

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying mgc4l71  
gene transcript.

&lt;400&gt; 32

agtggctccc acgctgaa

18

&lt;210&gt; 33

&lt;211&gt; 24

141/158

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of mgc4171 gene transcript.

&lt;400&gt; 33

tgaagagtcg gattttgaag cagc

24

&lt;210&gt; 34

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying lss  
gene transcript.

&lt;400&gt; 34

142/158

gtccggtgtc tacttgagaa acag

24

&lt;210&gt; 35

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying lss  
gene transcript.

&lt;400&gt; 35

agaccccagc aatgttttcc t

21

&lt;210&gt; 36

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

143/158

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of lss gene transcript.

&lt;400&gt; 36

cccaatggcg actggccg

18

&lt;210&gt; 37

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying nr0b2  
gene transcript.

&lt;400&gt; 37

cagcacttgg ctccttagga a

21



144/158

&lt;210&gt; 38

&lt;211&gt; 23

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying nr0b2  
gene transcript.

&lt;400&gt; 38

actgtgtcca aaccaaggaa gtc

23

&lt;210&gt; 39

&lt;211&gt; 23

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of nr0b2 gene transcript.

145/158

&lt;400&gt; 39

agctctttcac tcagccacac ccc

23

&lt;210&gt; 40

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying fabp1  
gene transcript.

&lt;400&gt; 40

gagttttctcc ggcaagtacc aa

22

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

146/158

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying fabp1 gene transcript.

<400> 41

cagaccgatt gccttcatga

20

<210> 42

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of fabp1 gene transcript.

<400> 42

tgcagagcca ggaaaacttt gaagc

25

147/158

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying hpn  
gene transcript.

&lt;400&gt; 43

gaaaccagat caagccaag at

22

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 18

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

148/158

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying hpn  
gene transcript.

<400> 44

ccctggcagg catcaatg

18

<210> 45

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of hpn gene transcript.

<400> 45

ttctgtgctg gctaccccga

20

<210> 46

149/158

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying *serpina3*  
gene transcript.

&lt;400&gt; 46

gaggaggcca cagaagcatc t

21

&lt;210&gt; 47

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying *serpina3*  
gene transcript.

150/158

&lt;400&gt; 47

ccttgtctcc actaatgcag aaag

24

&lt;210&gt; 48

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of *serpina3* gene transcript.

&lt;400&gt; 48

tgccacagca gtcaaaatca ccct

24

&lt;210&gt; 49

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

151/158

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying depp  
gene transcript.

&lt;400&gt; 49

tgtggtggca ttgggagagt

20

&lt;210&gt; 50

&lt;211&gt; 25

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying depp  
gene transcript.

&lt;400&gt; 50

tggtagcact gagggtaca gattc

25



152/158

&lt;210&gt; 51

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of depp gene transcript.

&lt;400&gt; 51

cccccatgat gagggccaag at

22

&lt;210&gt; 52

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying flj22362

153/158

gene transcript.

<400> 52

ggtaatgccca ctcccacaat ct

22

<210> 53

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying flj22362  
gene transcript.

<400> 53

ccttctggct ctgctcacag t

21

<210> 54

<211> 23

154/158

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of flj22362 gene transcript.

&lt;400&gt; 54

aggcctggta cccatcctct ttc

23

&lt;210&gt; 55

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying slc2a3  
gene transcript.

&lt;400&gt; 55

155/158

gcttgaaaag gtgaccttgc a

21

&lt;210&gt; 56

&lt;211&gt; 23

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying slc2a3  
gene transcript.

&lt;400&gt; 56

tgccttactg ccaacctact gtt

23

&lt;210&gt; 57

&lt;211&gt; 23

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

156/158

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting amplification of slc2a3 gene transcript.

&lt;400&gt; 57

tcatgtcaac tttctggctc etc

23

&lt;210&gt; 58

&lt;211&gt; 25

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying tagln gene transcript.

&lt;400&gt; 58

gagcataaga gggaattcac agaga

25

157/158

&lt;210&gt; 59

&lt;211&gt; 20

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as primer for amplifying tagln  
gene transcript.

&lt;400&gt; 59

ctgttgctgc ccactgaag

20

&lt;210&gt; 60

&lt;211&gt; 27

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial

&lt;220&gt;

<223> Oligonucleotide designed to act as TaqMan probe for detecting  
amplification of tagln gene transcript.

158/158

<400> 60

agctgcagga gggaaagcat gtcattg

27

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/017995

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C12N15/09, C12Q1/68, 1/02, G01N33/53, 33/50, 33/15

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C12N15/00-90, C12Q1/00-70, G01N33/53, 33/50, 33/15

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JICST FILE(JOIS), EUROPAT(QUESTEL), MEDLINE/BIOSIS/WPIDS (STN),  
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	C. GERBAUX et al., Hyperactivity of cathepsin B and other lysosomal enzymes in fibroblasts exposed to azithromycin, a dicationic macrolide antibiotic with exceptional tissue accumulation, 1996, FEBS Letters, 394, p.307-10	1-11
T	H.SAWADA et al., A toxicogenomic approach to drug-induced phospholipidosis: analysis of its induction mechanism and establishment of a novel in vitro screening system, 2005, Toxicol.Sci., 83(2), p.282-92.	1-11

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
19 January, 2005 (19.01.05)

Date of mailing of the international search report  
08 February, 2005 (08.02.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/017995

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	H.F. Clark et al., The Secreted protein discovery initiative (SPDI), a large-scale effort to identify novel human secreted and transmembrane proteins: a bioinformatics assessment, 2003, ACCESSION: NM_014960, NM_022823, Genome Res., 13(10), p.2265-70	1-11
A	J.R.Churchill et al., A new gene family predicted by a novel human heart cDNA, 1995, ACCESSION: U47674, Mol.Biol.Cell, 6(Suppl), p.418a	1-11
A	R.L. Strausberg et al., Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences, 2002, ACCESSION: NM_024307, Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 99(26), p.16899-903	1-11
A	C.K.Sung et al., Molecular cloning of cDNA encoding human lanosterol synthase, 1995, ACCESSION: D63807, Biol.Pharm.Bull., 18, p.1459-61	1-11
A	K.Lai et al., Estrogen Receptor Regulates Expression of the Orphan Receptor Small Heterodimer Partner, Sep.2003, ACCESSION: NM_021969, J.Biol.Chem., 278(38), p.36418-29	1-11
A	M.M.Pelsters et al., Intestinal-type and liver-type fatty acid-binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility, Oct.2003, ACCESSION: NM_001443, Clin.Biochem., 36(7), p.529-35	1-11
A	A.Tsuji et al., Hepsin a cell membrane-associated protease. Characterization, tissue distribution, and gene localization, 1991, ACCESSION: NM_002151, J.Biol.Chem., 266(25), p.16948-53	1-11
A	S.Hutchinson et al., Purification of human kallikrein 6 from biological fluids and identification of its complex with alpha (1)- antichymotrypsin, May 2003, ACCESSION: NM_001085, Clin.Chem., 49(5), p.746-51	1-11
A	S. Wiemann et al., Toward a catalog of human genes and proteins: sequencing and analysis of 500 novel complete protein coding human cDNAs, 2001, ACCESSION: AL136653, Genome Res., 11(3), p.422-35	1-11

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/017995

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	T. Kayano et al., Human facilitative glucose transporters. Isolation, functional characterization, and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5) expressed in small intestine, Kidney, muscle, and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like sequence (GLUT6), 1990, ACCESSION: NM_006931, J.Biol.Chem., 265(22), p.13276-82	1-11
A	J.M.Shields et al., Loss of transgelin in breast and colon tumors and in RIE-1 cells by Ras deregulation of gene expression through Raf-independent pathways, 2002, ACCESSION: NM_003186, J.Biol.Chem., 277(12), p.9790-9	1-11

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2004/017995

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: parts of 2, 4, 5, 7 and 9 to 11  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
(See extra sheet.)
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The genes of SEQ ID NOS:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 and 23 according to claims 1 to 11 have no chemical structure in common but are common to each other exclusively in being a gene the expression of which alters depending on the occurrence of phospholipidosis. However, it is a publicly known attempt to obtain a gene the expression of which alters depending on the occurrence of phospholipidosis, as reported in, for example, the following document.

C. Gerbaux, et al., Hyperactivity of cathepsin B and other lysosomal enzymes in fibroblasts exposed to azithromycin, a dicationic macrolide antibiotic with exceptional tissue accumulation, 1996, FEBS Letters, 394, p.307-10.  
Such being the case, the inventions (continued to extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/017995

## Continuation of Box No.II-2 of continuation of first sheet(2)

Claims 1, 3, 6 and 8

In these claims, it is unclear that the expression "having .. sequence" means whether "consisting of .. sequence" or "containing .. sequence". Thus, these claims are not described in a clear manner.

Claims 4 and 7

In these claims, the expression "about" makes the scope of the invention unclear. Thus, these claims are not described in a clear manner.

Claims 2, 4, 5, 7 and 9 to 11

It is unclear what substances the "genes" the expression of which alters depending on the occurrence of phospholipidosis in the above claims are in practice. Thus, these claims are not described in a clear manner.

Although EXAMPLES and so on are discussed concerning the above "genes", it is unknown what genes other than those having base sequences represented by any of SEQ ID NOS:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21 and 23 correspond thereto. Thus, the inventions according to these claims are not sufficiently supported by the description nor disclosed therein in a manner sufficiently clear and complete for the inventions to be carried out by a person skilled in the art.

No search was made on the inventions which are neither sufficiently supported by the description nor disclosed in the description in a sufficiently clear and complete manner, as discussed above.

## Continuation of Box No.III of continuation of first sheet(2)

relating to the above genes according to claims 1 to 11 cannot be considered as being a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept but being 12 groups of inventions differing from each other.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N 15/09, C12Q 1/68, 1/02, G01N 33/53, 33/50, 33/15

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> C12N 15/00-90, C12Q 1/00-70, G01N 33/53, 33/50, 33/15

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル(JOIS), EUROPAT(QUESTEL), MEDLINE/BIOSIS/WPIDS (STN),  
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	C. GERBAUX, et. al, Hyperactivity of cathepsin B and other lysosomal enzymes in fibroblasts exposed to azithromycin, a dicationic macrolide antibiotic with exceptional tissue accumulation, 1996, FEBS Letters, 394, p.307-10	1-11
T	H. SAWADA, et. al, A toxicogenomic approach to drug-induced phospholipidosis: analysis of its induction mechanism and establishment of a novel in vitro screening system, 2005, Toxicol. Sci., 83 (2), p.282-92.	1-11

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

- の日の後に公表された文献  
「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

19. 01. 2005

国際調査報告の発送日

08.02.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

阪野 誠司

4 N

9 2 8 6

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	H. F. Clark, et. al, The secreted protein discovery initiative (SPDI), a large-scale effort to identify novel human secreted and transmembrane proteins: a bioinformatics assessment, 2003, ACCESSION: NM_014960, NM_022823, Genome Res., 13 (10), p.2265-70	1-11
A	J. R. Churchill, et. al, A new gene family predicted by a novel human heart cDNA, 1995, ACCESSION: U47674, Mol. Biol. Cell, 6 (Suppl), p.418a	1-11
A	R. L. Strausberg, et. al, Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences, 2002, ACCESSION: NM_024307, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 99 (26), p.16899-903	1-11
A	C. K. Sung, et. al, Molecular cloning of cDNA encoding human lanosterol synthase, 1995, ACCESSION: D63807, Biol. Phar. Bull., 18, p.1459-61	1-11
A	K. Lai, et. al, Estrogen Receptor Regulates Expression of the Orphan Receptor Small Heterodimer Partner, Sep. 2003, ACCESSION: NM_021969, J. Biol. Chem., 278 (38), p.36418-29	1-11
A	M. M. Pelsers, et. al, Intestinal-type and liver-type fatty acid-binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility, Oct. 2003, ACCESSION: NM_001443, Clin Biochem., 36 (7), p.529-35	1-11
A	A. Tsuji, et. al, Hepsin, a cell membrane-associated protease. Characterization, tissue distribution, and gene localization, 1991, ACCESSION: NM_002151, J. Biol. Chem., 266 (25), p.16948-53	1-11
A	S. Hutchinson, et. al, Purification of human kallikrein 6 from biological fluids and identification of its complex with alpha(1)-antichymotrypsin, May 2003, ACCESSION: NM_001085, Clin. Chem., 49 (5), p.746-51	1-11
A	S. Wiemann, et. al, Toward a catalog of human genes and proteins: sequencing and analysis of 500 novel complete protein coding human cDNAs, 2001, ACCESSION: AL136653, Genome Res., 11 (3), p.422-35	1-11

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	T. Kayano, et. al, Human facilitative glucose transporters. Isolation, functional characterization, and gene localization of cDNAs encoding an isoform (GLUT5) expressed in small intestine, kidney, muscle, and adipose tissue and an unusual glucose transporter pseudogene-like sequence (GLUT6), 1990, ACCESSION: NM_006931, J. Biol. Chem., 265 (22), p.13276-82	1-11
A	J. M. Shields, et. al, Loss of transgelin in breast and colon tumors and in RIE-1 cells by Ras deregulation of gene expression through Raf-independent pathways, 2002, ACCESSION: NM_003186, J. Biol. Chem., 277 (12), p.9790-9	1-11

## 第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☒ 請求の範囲 2, 4, 5, 7, 9-11の一部 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、  
特別ページを参照。
3. ☐ 請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-11に係る配列番号1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23に係る遺伝子群は、共通の化学構造を有するものでなく、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する遺伝子であることのみ共通する。しかしながら、リン脂質症の発現と相関して発現が変動する遺伝子を得ようとする課題は、例えば、以下の文献に記載されているように公知の事実である。

C. Gerbaux, et. al, Hyperactivity of cathepsin B and other lysosomal enzymes in fibroblasts exposed to azithromycin, a dicationic macrolide antibiotic with exceptional tissue accumulation, 1996, FEBS Letters, 394, p. 307-10

よって、請求の範囲1-11に記載された上記遺伝子群に係る発明は、単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明であるとはいえず、異なった12の発明からなる発明群であると認められる。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



## 請求の範囲1、3、6、8

上記請求の範囲における「・・配列を有する」という記載は、「・・配列からなる」ことを意味するのか、「・・配列を含む」ことを意味するのか不明である。したがって、上記請求の範囲は明確に記載されていない。

## 請求の範囲4、7

上記請求の範囲における「約」という記載は、発明の範囲を不明確とするものである。したがって、上記請求の範囲は明確に記載されていない。

## 請求の範囲2、4、5、7、9-11

上記請求の範囲に係るリン脂質症の発現と相関して発現が変動する「遺伝子」は、具体的にどのような物であるか不明である。したがって、該請求の範囲は、明確に記載されているとはいえない。

また、該「遺伝子」について、実施例等を見ても、配列番号1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23のいずれかに示される塩基配列からなる遺伝子以外に、どのような遺伝子が該当するか不明である。したがって、上記請求の範囲に係る発明について、明細書に十分に裏付けられているとはいえないし、当該技術分野の専門家が実施できる程度に明確かつ十分に開示されていない。

なお、上記の如く、明細書に十分に裏付けられておらず、明細書に明確かつ十分に開示されていない発明については、調査を行っていない。